

Aptima™ HPV 16 18/45 Genotype Assay (Panther™ System)

Istruzioni per l'uso
Per uso diagnostico *in vitro*
Solo per l'esportazione dagli U.S.A.

Informazioni generali	2
Usato previsto	2
Riepilogo e spiegazione dell'analisi	2
Principi della procedura	3
Riepilogo di sicurezza e prestazioni	3
Avvertenze e precauzioni	4
Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti	6
Raccolta e conservazione dei campioni biologici	6
Panther System	9
Reagenti e materiali forniti	9
Materiali richiesti ma disponibili separatamente	10
Procedura di analisi del Panther System	11
Note procedurali	13
Procedure di controllo della qualità	14
Interpretazione del test	16
Limiti	17
Risultati attesi con il Panther System: prevalenza di mRNA dell'HPV ad alto rischio	18
Prestazioni del test Panther System	19
Bibliografia	49
Recapiti e Cronologia delle revisioni	50

Informazioni generali

Uso previsto

Aptima™ HPV 16 18/45 genotype assay (Dosaggio di genotipizzazione Aptima HPV 16 18/45) è un test di amplificazione degli acidi nucleici *in vitro* per il rilevamento qualitativo dell'RNA messaggero (mRNA) virale E6/E7 del Papillomavirus umano (Human Papillomavirus, HPV) 16, 18 e 45 in campioni cervicali prelevati da donne con risultati positivi all'Aptima HPV assay. L'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay è in grado di differenziare l'HPV 16 dall'HPV 18 e/o dall'HPV 45, ma non differenzia tra HPV 18 e HPV 45.

L'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay può essere usato per testare i seguenti tipi di campione sul Panther System: campioni cervicali raccolti in fiale per Pap test ThinPrep™ contenenti la soluzione PreservCyt™ prima o dopo il trattamento di campioni per Pap test, campioni cervicali raccolti con il kit di raccolta e trasporto dei campioni cervicali Aptima, oppure campioni cervicali raccolti nel liquido conservante SurePath.

L'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay è indicato per l'uso nello screening routinario del tumore della cervice. Le donne che risultano positive o negative ai tipi di HPV 16, 18 o 45 devono essere gestite/ seguite in conformità con le linee guida sanitarie, la valutazione dello screening dell'operatore sanitario, la storia clinica e altri fattori di rischio, per valutare il pericolo di displasia o carcinoma cervicale.

Riepilogo e spiegazione dell'analisi

Il cancro cervicale è uno dei cancri più diffusi tra le donne nel mondo. L'HPV è l'agente eziologico responsabile di oltre il 99% di tutti i casi di cancro cervicale.^{1,2,3} L'HPV è un virus a DNA comunemente trasmesso per via sessuale che comprende più di 100 genotipi.¹

Il genoma virale HPV è un DNA circolare a doppio filamento, di lunghezza pari a circa 7900 coppie di basi. Il genoma presenta otto cornici sovrapposte di lettura aperta. Sono presenti sei geni precoci (E), due geni tardivi (L) e una lunga regione di controllo non tradotta. I geni tardivi L1 e L2 codificano per le proteine strutturali del capsido maggiore e minore. I geni precoci regolano la replicazione virale dell'[APOS]HPV. I geni E6 ed E7 dei genotipi di HPV ad alto rischio sono notoriamente oncogeni. Le proteine espresse da mRNA policistronico E6/E7 alterano le funzioni cellulari della proteina p53 e della proteina del retinoblastoma, con conseguente deterioramento dei punti di controllo del ciclo cellulare e instabilità genomica.^{1,4}

Quattordici genotipi di HPV sono considerati patogenici o ad alto rischio per la progressione della cervicopatia.⁵ Svitati studi hanno collegato i genotipi 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68 alla progressione della malattia.^{2,6,7} Le donne con infezione persistente causata da uno di questi genotipi sono a maggior rischio di sviluppare grave displasia o carcinoma cervicale.^{5,8}

Gli studi hanno dimostrato che i diversi tipi di HPV ad alto rischio conferiscono diversi livelli di rischio per lo sviluppo di displasia grave o carcinoma cervicale. In tutto il mondo, i tipi 16, 18 e 45 dell'HPV sono associati a circa l'80% di tutti i tumori invasivi della cervice.^{7,10} Questi tre tipi si ritrovano nel 75% di tutti i carcinomi squamosi e il tipo 16 è il principale responsabile di queste infezioni (85%). Negli adenocarcinomi, i tipi 16, 18 e 45 dell'HPV si ritrovano nell'80-94% dei casi e i tipi 18 e 45 sono i responsabili di quasi la metà di queste infezioni.^{7,10} È stato riportato che la presenza del tipo 18 dell'HPV nello stadio iniziale del cancro è associata a una prognosi infausta.¹¹ I tipi 18 e 45 dell'HPV sono sottostimati rispetto al loro reale coinvolgimento nella comparsa delle lesioni precancerose, che possono essere causate dalla presenza di lesioni occulte del canale cervicale inaccessibile all'esame colposcopico.¹² Nelle donne infette dai tipi 16 e/o 18 dell'HPV, il rischio cumulativo di sviluppare una cervicopatia è 10 volte superiore se paragonato al rischio di sviluppare la malattia dovuto ad altri tipi di HPV ad alto rischio.^{13,14,15}

Principi della procedura

L'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay prevede tre passaggi principali, che si svolgono in una singola provetta: cattura del target, amplificazione del target con amplificazione mediata da trascrizione (Transcription-Mediated Amplification, TMA)¹⁶ e rilevamento dei prodotti dell'amplificazione (ampliconi) mediante analisi con protezione dell'ibridizzazione (Hybridization Protection Assay, HPA).¹⁷ Il test incorpora un controllo interno (Internal Control, IC) per il monitoraggio della cattura, dell'amplificazione e del rilevamento dell'acido nucleico, nonché per l'individuazione di eventuali errori dell'operatore o della strumentazione.

I campioni vengono raccolti o trasferiti in una provetta contenente un terreno di trasporto dei campioni (Specimen Transport Medium, STM) che provoca la lisi delle cellule, libera l'mRNA e lo protegge dalla degradazione durante la conservazione. Durante l'esecuzione di Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, l'mRNA target viene isolato dal campione mediante l'uso di oligomeri di cattura legati a microparticelle magnetiche. Gli oligomeri di cattura contengono sequenze complementari a regioni specifiche delle molecole target dell'[APOS]mRNA dell'[APOS]HPV, oltre ad un filamento di residui di deossiadenosina. Durante il procedimento di ibridizzazione, le regioni specifiche delle sequenze degli oligomeri di cattura si legano a regioni specifiche della molecola target di mRNA dell'[APOS]HPV. Il complesso oligomero di cattura target viene quindi catturato fuori dalla soluzione diminuendo la temperatura di reazione fino alla temperatura ambiente. Questa riduzione della temperatura permette che si verifichi l'[APOS]ibridizzazione fra la regione della deossiadenosina sull'[APOS]oligomero di cattura e le molecole di poli-deossitimidina unite con legame covalente alle particelle magnetiche. Le microparticelle, incluse le molecole target catturate di mRNA dell'HPV ad esse legate, vengono attratte sul lato della provetta di reazione usando dei magneti, e il surnatante viene aspirato. Le particelle vengono lavate per rimuovere la matrice residua di campione che potrebbe contenere inibitori dell'[APOS]amplificazione.

Una volta completata la cattura del target, l'[APOS]mRNA dell'[APOS]HPV viene amplificato mediante TMA: un metodo di amplificazione degli acidi nucleici basato su trascrizione che utilizza due enzimi, la trascrittasi inversa del virus della leucemia murina di Moloney (MMLV) e la polimerasi dell'[APOS]RNA T7. La trascrittasi inversa viene usata per generare una copia del DNA della sequenza dell'[APOS]mRNA target contenente una sequenza promotrice per la polimerasi dell'[APOS]RNA T7. La polimerasi dell'[APOS]RNA T7 produce copie multiple di amplicon di RNA dal modello della copia di DNA.

L'[APOS]amplicon viene individuato mediante HPA mediante sonde di acido nucleico a singolo filamento con marcatori chemiluminescenti che sono complementari all'[APOS]amplicon. Le sonde di acido nucleico marcate si ibridizzano specificamente con l'[APOS]amplicon. Il reagente di selezione distingue le sonde ibridizzate da quelle non ibridizzate inattivando il marcatore sulle sonde non ibridizzate. Durante la fase di rilevamento, la luce emessa dagli ibridi marcati RNA-DNA viene misurata in un luminometro come segnali fotonici denominati unità di luce relativa (Relative Light Units, RLU). I risultati finali del test vengono interpretati in base al rapporto segnale/cutoff dell'analita (signal-to-cutoff, S/CO).

Ad ogni reazione viene aggiunto un IC mediante il reagente di cattura del target. L'IC esegue il monitoraggio delle fasi del test per la cattura, l'amplificazione e il rilevamento del target. Il dosaggio a doppia cinetica (Dual Kinetic Assay, DKA) è il metodo usato per differenziare i segnali dell'HPV e il segnale dell'IC.¹⁸ Gli ampliconi dell'IC e dell'HPV 16 vengono rilevati dalle sonde con cinetica di emissione luminosa rapida (segnale "flash"). In ogni reazione il segnale dell'IC viene distinto dal segnale dell'HPV 16 dall'intensità dell'emissione luminosa. Gli ampliconi specifici dell'HPV 18 e 45 vengono rilevati utilizzando delle sonde con cinetica di emissione luminosa più lenta (segnale "glower").

Riepilogo di sicurezza e prestazioni

L'SSP (Riepilogo di sicurezza e prestazioni) è disponibile nella banca dati europea dei dispositivi medici (Eudamed), dove è collegato agli identificativi del dispositivo (UDI-DI di base). Per individuare l'SSP relativo all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, fare riferimento al Basic Unique Device Identifier (BUDI): **54200455DIAGAPTHPVGTVK**.

Avvertenze e precauzioni

- A. Per uso diagnostico *in vitro*.
- B. Per uso professionale.
- C. Per ulteriori avvertenze e precauzioni specifiche relative alla strumentazione, consultare il *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System).

Informazioni pertinenti al laboratorio

- D. Utilizzare solo contenitori da laboratorio monouso forniti o indicati in modo specifico come monouso.
- E. Adottare le consuete precauzioni di laboratorio. Non mangiare, bere o fumare nelle aree di lavoro. Quando si maneggiano campioni biologici e reagenti del kit, indossare guanti monouso senza talco, occhiali protettivi e camici da laboratorio. Lavarsi accuratamente le mani dopo aver maneggiato campioni e reagenti del kit.
- F. **Avvertenza: irritante e corrosivo.** Evitare il contatto di Auto Detect 2 con pelle, occhi e mucose. Se questo liquido viene a contatto con la pelle o con gli occhi, risciacquare con acqua le zone colpite. Se questo liquido si rovescia, diluire il liquido rovesciato con acqua prima di asciugarlo con un panno.
- G. Le superfici di lavoro, le pipette e le altre apparecchiature devono essere decontaminate regolarmente con una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5% – 3,5% (0,35 M – 0,5 M). Per maggiori informazioni, consultare *Procedura di analisi del Panther System*.

Pertinenti ai campioni

- H. Mantenere le corrette condizioni di temperatura durante la spedizione e la conservazione dei campioni biologici per assicurarne l'integrità. La stabilità dei campioni non è stata valutata in condizioni di spedizione e conservazione diverse da quelle raccomandate.
- I. Le date di scadenza indicate sui kit e nelle provette di raccolta/trasferimento si riferiscono al centro di trasferimento e non al laboratorio di analisi. I campioni raccolti/trasferiti in qualsiasi momento precedente a queste date di scadenza sono validi per I[APOS]analisi purché siano stati trasportati e conservati secondo le istruzioni incluse nel rispettivo foglio illustrativo, anche se queste date di scadenza sono state superate.
- J. I campioni biologici potrebbero essere infettivi. Nell'eseguire questo test, adottare le precauzioni universali. Metodi adeguati di manipolazione e smaltimento vanno stabiliti dal direttore del laboratorio. L[APOS]esecuzione di questa procedura è consentita solo a personale adeguatamente addestrato nella manipolazione di materiali infettivi.
- K. Evitare la contaminazione crociata durante i procedimenti di manipolazione dei campioni biologici. Assicurarsi che i contenitori dei campioni biologici non vengano in contatto tra di loro ed eliminare i materiali usati senza farli passare sopra i contenitori aperti. Cambiare i guanti se vengono a contatto con i campioni biologici.
- L. In determinate condizioni, il liquido può fuoriuscire forando i tappi delle provette. Per maggiori informazioni, consultare *Procedura di analisi del Panther System*.
- M. I campioni per citologia in fase liquida ThinPrep e i campioni prelevati con Aptima Cervical Specimen Collection and Transport (CSCT) devono essere rifiutati se nella provetta del campione è stato lasciato il dispositivo di prelievo.
- N. I campioni per citologia in fase liquida SurePath devono essere rifiutati se nella provetta non è presente il dispositivo di prelievo.

Pertinenti al test

- O. Conservare i reagenti alle temperature specificate. L[USO] di reagenti conservati in modo erraneo può influire sulle prestazioni del dosaggio.
- P. Evitare la contaminazione microbica e da ribonucleasi dei reagenti.
- Q. Non usare il kit dopo la data di scadenza.
- R. Non scambiare, mescolare o combinare reagenti o calibratori provenienti da kit con numeri di lotto diversi.
- S. I liquidi di Aptima assay e i reagenti Auto Detect non fanno parte del lotto master; è quindi possibile utilizzare qualsiasi lotto.
- T. Per ottenere risultati accurati del dosaggio, è necessaria una miscelazione accurata dei reagenti di analisi.
- U. Usare puntali con tappi idrofobi.
- V. Alcuni reagenti di questo kit sono etichettati con simboli di rischio e sicurezza.

Nota: La comunicazione dei pericoli riflette le classificazioni usate nelle schede di sicurezza (SDS) europee. Per informazioni relative alle indicazioni di pericolo specifiche della propria nazione, fare riferimento alla scheda SDS specifica nella Raccolta delle schede di sicurezza all'indirizzo www.hologic.com/sds. Per ulteriori informazioni sui simboli, fare riferimento alla legenda dei simboli alla pagina www.hologic.com/package-inserts.

Informazioni sui rischi UE	
	<p>Reagente di selezione ACIDO BORICO 1 – 5%</p> <p>AVVERTENZA H315 - Provoca irritazione cutanea</p>
—	<p>Reagente di cattura del target HEPES 5 – 10% EDTA 1 – 5% IDROSSIDO DI LITIO, MONOIDRATO 1 - 5%</p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata P273 - Non disperdere nell'ambiente P280 - Proteggere gli occhi/il viso</p>
—	<p>Reagente di amplificazione HEPES 25 – 30%</p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata P273 - Non disperdere nell'ambiente P280 - Proteggere gli occhi/il viso</p>
—	<p>Reagente enzimatico HEPES 1 – 5%</p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata P273 - Non disperdere nell'ambiente P280 - Proteggere gli occhi/il viso</p>
—	<p>Reagente sonda LAURIL SOLFATO, SALE DI LITIO 35 – 40% ACIDO SUCCINICO 10 – 15% IDROSSIDO DI LITIO MONOIDRATO 10 – 15%</p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata P273 - Non disperdere nell'ambiente P280 - Proteggere gli occhi/il viso</p>

Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti

Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza stampata sulle fiale. Di seguito sono riportate ulteriori istruzioni sulla conservazione.

A. Alla consegna, conservare i seguenti reagenti a 2 °C - 8 °C (in frigorifero):

Reagente di amplificazione HPV 16 18/45

Reagente enzimatico HPV 16 18/45

Reagente sonda HPV 16 18/45

Reagente di controllo interno HPV 16 18/45

Calibratori positivi HPV 16 18/45 e calibratori negativi HPV 16 18/45

B. Conservare i seguenti reagenti a temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C (temperatura ambiente):

Soluzione di ricostituzione per amplificazione HPV 16 18/45

Soluzione di ricostituzione dell'enzima HPV 16 18/45

Soluzione di ricostituzione della sonda HPV 16 18/45

Reagente di cattura del target HPV 16 18/45

Reagente di selezione HPV 16 18/45

C. Dopo la ricostituzione, i seguenti reagenti sono stabili per 30 giorni, se conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C:

Reagente di amplificazione HPV 16 18/45

Reagente enzimatico HPV 16 18/45

Reagente sonda HPV 16 18/45

D. Il reagente di cattura del target di lavoro (wTCR) è stabile per 30 giorni se conservato a temperature comprese tra 15 °C e 30 °C. Non refrigerare.

E. Smaltire qualsiasi reagente ricostituito inutilizzato e il reagente Target Capture di lavoro (wTCR) dopo 30 giorni o dopo la data di scadenza del Lotto di riferimento, a seconda di quale data cada per prima.

F. I reagenti dell'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sono stabili per un totale di 72 ore se conservati a bordo del Panther System.

G. Il reagente sonda e il reagente sonda ricostituito sono fotosensibili. Conservare i reagenti al riparo dalla luce.

H. **Non congelare i reagenti.**

Raccolta e conservazione dei campioni biologici

A. Raccolta e trattamento dei campioni

Campioni per citologia in fase liquida ThinPrep

1. Raccogliere i campioni cervicali nelle fiale per Pap test ThinPrep contenenti la soluzione PreservCyt utilizzando uno spazzolino per prelievo endocervicale o un campionamento combinato con spatola e cytobrush in base alle istruzioni del produttore.
2. Prima o dopo il trattamento con ThinPrep 5000 Processor, ThinPrep 5000 Processor con Autoloader o ThinPrep Genesis Processor, trasferire 1 ml del campione per citologia in fase liquida

ThinPrep in una provetta di trasporto del campione Aptima, secondo quanto riportato nel foglietto illustrativo del kit di trasferimento del campione Aptima.

Campioni per citologia in fase liquida SurePath

1. Raccogliere un campione per citologia in fase liquida SurePath seguendo le istruzioni per l'uso del Pap test SurePath e/o del PrepStain System.
2. Trasferire il campione per citologia in fase liquida SurePath all'interno di una provetta di trasferimento del campione Aptima secondo le istruzioni riportate nel foglietto illustrativo del kit di trasferimento dei campioni Aptima.

Campioni del kit di raccolta e trasporto di campioni cervicali Aptima

Per prelevare i campioni attenersi alle istruzioni per l'uso del kit CSCT.

B. Trasporto e conservazione prima dell'[APOS]analisi

Campioni per citologia in fase liquida ThinPrep

1. Trasportare i campioni per citologia in fase liquida ThinPrep a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C.
2. I campioni devono essere trasferiti nelle provette di trasferimento dei campioni Aptima entro 105 giorni dalla data di raccolta.
3. Prima del trasferimento, i campioni per citologia in fase liquida ThinPrep devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C e non devono essere esposti per oltre 30 giorni a temperature superiori a 8 °C.
4. I campioni per citologia in fase liquida ThinPrep trasferiti in provette di trasferimento dei campioni Aptima possono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C per un massimo di 60 giorni.
5. Se si richiede un periodo di conservazione più lungo, i campioni per citologia in fase liquida ThinPrep o i campioni per citologia in fase liquida ThinPrep diluiti nella provetta di trasporto del campione possono essere conservati a una temperatura compresa tra -20 °C e -70 °C per un massimo di 24 mesi.

Campioni per citologia in fase liquida SurePath

1. Trasportare i campioni per citologia in fase liquida SurePath a una temperatura compresa tra 2 °C e 25 °C.
2. I campioni devono essere trasferiti nelle provette di trasferimento dei campioni Aptima entro 7 giorni dalla data di raccolta.
3. Prima del trasferimento, i campioni per citologia in fase liquida SurePath devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 25 °C.
4. I campioni per citologia in fase liquida SurePath trasferiti in provette di trasferimento dei campioni Aptima possono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 25 °C per un massimo di 7 giorni.
5. I campioni SurePath trasferiti vanno trattati con la soluzione di trasporto Aptima prima di essere analizzati con Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. I campioni trattati possono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C fino a 17 giorni prima di essere analizzati con Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Per ulteriori dettagli, consultare il foglietto illustrativo del kit di trasferimento dei campioni.

Campioni del kit di raccolta e trasporto di campioni cervicali Aptima

1. Trasportare e conservare i campioni a 2 °C – 30 °C per un massimo di 60 giorni.
2. Se si richiede un periodo di conservazione più lungo, i campioni prelevati con il kit di trasporto possono essere conservati a una temperatura compresa tra -20 °C e -70 °C per un massimo di 24 mesi.

C. Conservazione dei campioni dopo l'[APOS]analisi

1. I campioni analizzati devono essere conservati su una rastrelliera, in posizione verticale.
2. Le provette dei campioni vanno coperte con una barriera di plastica o di alluminio nuova e pulita.
3. Se i campioni analizzati devono essere congelati o spediti, rimuovere i tappi perforabili dalle provette dei campioni e sostituirli con nuovi tappi non perforabili. Se i campioni devono essere spediti per essere sottoposti ad analisi in un'[APOS]altra struttura, occorre mantenere le temperature specificate. Prima di rimuovere i tappi dalle provette di campioni precedentemente analizzati che sono state richiuse, occorre centrifugare le provette per 5 minuti ad una forza centrifuga relativa (Relative Centrifugal Force, RCF) di 420 per far scendere tutto il liquido sul fondo della provetta.

Nota: Nota - La spedizione dei campioni deve essere effettuata in conformità ai regolamenti applicabili relativi al trasporto locale, nazionale e internazionale.

Panther System

Reagenti e materiali forniti

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, 100 test, (3 confezioni) Cat. No. 303236

I calibratori possono essere acquistati separatamente. Vedere sotto i numeri di parte delle scatole individuali.

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, scatola refrigerata
(alla consegna, conservare a 2 °C – 8 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
A	Reagente di amplificazione HPV 16 18/45 <i>Acidi nucleici non infettivi liofilizzati in soluzione tamponata contenente < 5% di agente strutturante.</i>	1 flacone
E	Reagente enzimatico HPV 16 18/45 <i>Trascrittasi inversa e polimerasi dell'RNA liofilizzate in soluzione tamponata HEPES contenente < 10% di reagente strutturante.</i>	1 flacone
P	Reagente sonda HPV 16 18/45 <i>Sonde di DNA non infettive chemiluminescenti (< 500 ng/fiala) liofilizzate in soluzione tamponata con succinato contenente < 5% di detergente.</i>	1 flacone
CI	Reagente di controllo interno HPV 16 18/45 <i>RNA trascritto non infettivo in soluzione tamponata contenente < 5% di detergente.</i>	1 flacone

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, scatola a temperatura ambiente
(alla consegna, conservare a una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
AR	Soluzione di ricostituzione per amplificazione HPV 16 18/45 <i>Soluzione acquosa contenente conservanti.</i>	1 flacone
ER	Soluzione di ricostituzione dell'enzima HPV 16 18/45 <i>Soluzione tamponata con HEPES contenente un tensioattivo e glicerolo.</i>	1 flacone
PR	Soluzione di ricostituzione della sonda HPV 16 18/45 <i>Soluzione tamponata succinato contenente < 5% di detergente.</i>	1 flacone
S	Reagente di selezione HPV 16 18/45 <i>600 mM di soluzione tamponata con borato contenente tensioattivo.</i>	1 flacone
TCR	Reagente di cattura del target HPV 16 18/45 <i>Soluzione tamponata contenente fase solida e oligomeri di cattura (< 0,5 mg/mL).</i>	1 flacone
	Collari per ricostituzione	3
	Foglio dei codici a barre dei lotti master	1 foglio

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, scatola dei calibratori (N. di cat. n. 303235)
(alla consegna, conservare a 2 °C – 8 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
PCAL1	Calibratore positivo 1 HPV 16 18/45 <i>Trascritto in vitro di HPV 18 non infettivo, in concentrazione di 750 copie per ml, in soluzione tamponata contenente < 5% di detergente.</i>	5 flaconi
PCAL2	Calibratore positivo 2 HPV 16 18/45 <i>Trascritto in vitro di HPV 16 non infettivo, in concentrazione di 1000 copie per ml, in soluzione tamponata contenente < 5% di detergente.</i>	5 flaconi
NCAL	Calibratore negativo HPV 16 18/45 <i>Soluzione tamponata contenente < 5% di detergente.</i>	5 flaconi

Materiali richiesti ma disponibili separatamente

Nota: salvo altrimenti specificato, per i materiali resi disponibili da Hologic sono indicati i rispettivi numeri di catalogo.

	N. cat.
Panther System	303095
Kit sessione analitica Panther	303096
<i>Kit di liquidi per test Aptima Assay</i>	303014
<i>Soluzione di lavaggio Aptima, tampone per liquido di disattivazione Aptima e reagente dell'olio Aptima</i>	
<i>Aptima Auto Detect Kit</i>	303013
<i>Unità multiprovetta (MTU)</i>	104772-02
<i>Kit dei sacchetti di rifiuti Panther</i>	902731
<i>Coperchio del contenitore di rifiuti Panther</i>	504405
Puntali, 1000 µL, con filtro, conduttivi, rilevatori di liquido e monouso.	901121 (10612513 Tecan)
<i>Non tutti i prodotti sono disponibili in tutte le regioni geografiche. Contattare il rappresentante per informazioni specifiche della regione geografica</i>	903031 (10612513 Tecan)
	MME-04134 (30180117 Tecan)
	MME-04128
Kit di trasferimento dei campioni Aptima	301154C
Kit di trasferimento dei campioni Aptima - stampabile	PRD-05110
Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit	302657
Tappi perforabili Aptima	105668
Tappi non perforabili di ricambio	103036A
Tappi di ricambio per 100 kit di analisi:	
<i>Soluzioni di ricostituzione per reagente di amplificazione e reagente sonda</i>	CL0041
<i>Soluzione di ricostituzione per reagente enzimatico</i>	CL0041
<i>Reagente di cattura del target e reagente di selezione</i>	501604
Candeggina, soluzione di ipoclorito di sodio al 5% – 8,25% (0,7 M – 1,16 M)	—
Guanti monouso senza talco	—
Teli da banco di laboratorio con retro plastificato	—
Panni che non lasciano pelucchi	—
Pipettatore	—
Kit della soluzione di trasporto Aptima (solo per i campioni SurePath)	303658

Materiali opzionali

	N. cat.
Potenziatore di candeggina per pulizia	302101

Procedura di analisi del Panther System

Nota: per ulteriori informazioni sulla procedura del Panther/Panther Fusion System, consultare il Panther System Operator's Manual (Manuale per l'operatore del Panther System).

A. Preparazione dell'[APOS]area di lavoro

Pulire le superfici di lavoro dove verranno preparati i reagenti. Passare sulle superfici di lavoro una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5% – 3,5% (0,35 M – 0,5 M). Lasciare la candeggina a contatto con le superfici per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua. Non lasciare asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio. Coprire la superficie del banco sul quale verranno preparati i reagenti con teli da banco di laboratorio puliti, assorbenti e plastificati.

B. Preparazione del reagente di un nuovo kit

Nota: Eseguire la ricostituzione dei reagenti prima di iniziare qualsiasi lavoro sul Panther System.

1. Per ricostituire i reagenti di amplificazione, enzimatico e sonda, unire il contenuto dei flaconi di reagente liofilizzato alla soluzione di ricostituzione. Se le soluzioni di ricostituzione sono state refrigerate, prima dell'[APOS]uso lasciare che raggiungano la temperatura ambiente.
 - a. Abbinare ciascuna soluzione di ricostituzione al rispettivo reagente liofilizzato. Prima di collegare il collare di ricostituzione, assicurarsi che le etichette della soluzione di ricostituzione e del reagente siano dello stesso colore.
 - b. Controllare i numeri di lotto sul foglio dei codici a barre dei lotti master per assicurarsi di abbinare i reagenti appropriati.
 - c. Aprire la fiala del reagente liofilizzato e inserire con fermezza l'estremità indentata del collare di ricostituzione nell'apertura della fiala (Figura 1, Procedimento 1).
 - d. Aprire la bottiglia di soluzione di ricostituzione corrispondente e disporre il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
 - e. Tenendo la bottiglia della soluzione di ricostituzione sul banco, inserire con fermezza l'altra estremità del collare di ricostituzione nell'apertura della bottiglia (Figura 1, Procedimento 2).
 - f. Capovolgere lentamente la bottiglia con il flacone collegato. Lasciare scendere la soluzione dal flacone nella fiala di vetro (Figura 1, Procedimento 3).
 - g. Agitare roteando con attenzione la soluzione nel flacone per miscelarla. Evitare di formare schiuma mentre si agita il flacone con movimento rotatorio (Figura 1, Procedimento 4).
 - h. Attendere che il reagente liofilizzato passi in soluzione, quindi capovolgere nuovamente i due flaconi assemblati, inclinandoli con un angolo di 45° per ridurre al minimo la formazione di schiuma (Figura 1, Procedimento 5). Lasciare che tutto il liquido ritorni nella bottiglia di plastica.
 - i. Rimuovere il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 1, Procedimento 6).
 - j. Rimettere il tappo sulla bottiglia di plastica. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data di ricostituzione (Figura 1, Procedimento 7).
 - k. Rimuovere il collare di ricostituzione e la fiala (Figura 1, Procedimento 8).

Avvertenza: Evitare la formazione di schiuma durante la ricostituzione dei reagenti. La schiuma pregiudica la sensibilità di rilevamento del livello di liquido nel Panther System.

Nota: Miscelare a fondo i reagenti di amplificazione, enzimatico, sonda e di selezione (Selection) capovolgendo delicatamente i flaconi prima di caricarli nel sistema. Evitare la formazione di schiuma quando si capovolgono i reagenti.

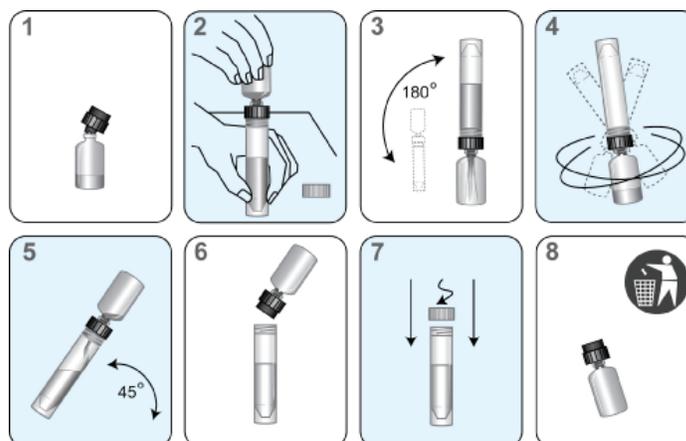


Figura 1. Procedimento di ricostituzione del Panther System

2. Preparare il reagente di cattura del target pronto all'[APOS]uso (wTCR).
 - a. Abbinare i flaconi di TCR e di controllo interno (IC).
 - b. Controllare i numeri di lotto dei reagenti sul foglio dei codici a barre dei lotti master per assicurarsi di abbinare i reagenti appropriati.
 - c. Aprire il flacone di TCR e disporre il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
 - d. Togliere il tappo dal flacone di controllo interno e versare l'[APOS]intero contenuto nel flacone di TCR. E'[APOS] normale che nel flacone di controllo interno resti una piccola quantità di liquido.
 - e. Chiudere con il tappo il flacone di TCR e roteare con attenzione la soluzione per miscelare il contenuto. Evitare la formazione di schiuma durante questo passaggio.
 - f. Registrare sull'[APOS]etichetta le iniziali dell'[APOS]operatore e la data corrente.
 - g. Eliminare il flacone e il tappo del controllo interno.
 - h. Nel wTCR può formarsi precipitato che potrebbe produrre risultati non validi a causa di errori di verifica del volume. Il precipitato può essere dissolto riscaldando il wTCR a 42 °C - 60 °C per un massimo di 90 minuti. Prima di usare il reagente, lasciare che raggiunga la temperatura ambiente. Non usare il TCR se persiste il precipitato.
3. Preparare il reagente di selezione
 - a. Verificare il numero di lotto del reagente sul foglio dei lotti master per assicurarsi che appartenga al kit.
 - b. Se il reagente di selezione contiene del precipitato, riscaldare il reagente a 60 °C ± 1 °C per un massimo di 45 minuti per agevolare la dissoluzione del precipitato. Miscelare con attenzione il flacone ogni 5 - 10 minuti. Prima di usare il reagente di selezione, lasciare che raggiunga la temperatura ambiente. Non usarlo se persistono precipitato o torbidità.

Nota: Miscelare accuratamente tutti i reagenti capovolgendoli con attenzione prima di caricarli sul sistema. Evitare la formazione di schiuma quando si capovolgono i reagenti.

- C. Preparazione di reagenti precedentemente ricostituiti
 1. I reagenti di amplificazione, enzimatico e sonda precedentemente ricostituiti devono essere portati a temperatura ambiente (tra 15 °C e 30 °C) prima di iniziare il test.
 2. Se il reagente sonda contiene precipitato che non ritorna in soluzione a temperatura ambiente, riscaldare a non oltre 60 °C per 1 - 2 minuti. Non usare il reagente se sono presenti precipitato o torbidità.
 3. Se il wTCR contiene precipitato, riscaldarlo a 42 °C - 60 °C fino a 90 minutes. Prima di usare il reagente, lasciare che raggiunga la temperatura ambiente. Non usare il TCR se persiste il precipitato.

4. Se il reagente di selezione contiene del precipitato, riscaldare il reagente a $60\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ per un massimo di 45 minuti per agevolare la dissoluzione del precipitato. Miscelare con attenzione il flacone ogni 5 - 10 minuti. Prima di usare il reagente di selezione, lasciare che raggiunga la temperatura ambiente. Non usarlo se persistono precipitato o torbidità.
5. Miscelare accuratamente ciascun reagente capovolgendolo con attenzione prima di caricarlo sul sistema. Evitare la formazione di schiuma quando si capovolgono i reagenti.
6. Evitare di riempire i flaconi dei reagenti fino all'orlo. Il Panther System riconosce e rifiuta i flaconi riempiti fino all'orlo.

D. Manipolazione dei campioni

1. Prima di procedere al trattamento, attendere che tutti i campioni (calibratori, campioni clinici ed eventuali altri campioni di controllo qualità esterni forniti dall'utente) raggiungano la temperatura ambiente.
2. **Non miscelare i campioni con il vortex.**
3. Ispezionare le provette del campione prima di caricarle nella rastrelliera. Se una provetta presenta un volume inferiore a quello tipicamente osservato, centrifugarla per 5 minuti a 420 RCF per assicurarsi che non ci sia del liquido nel tappo.

Nota: Se non si esegue il passaggio 3, il liquido potrebbe traboccare dal tappo della provetta del campione.

E. Preparazione del sistema

Impostare il sistema secondo le istruzioni contenute nel *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Manuale d'uso del sistema Panther/Panther Fusion) e nella sezione *Note procedurali* qui di seguito. Accertarsi che vengano utilizzate rastrelliere per reagenti e adattatori per TCR di dimensioni appropriate.

Note procedurali

A. Calibratori

1. Per poter utilizzare correttamente il software di Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sul Panther System, sono necessari due replicati del calibratore negativo e di ciascun calibratore positivo. È possibile caricare una fiala di ciascun calibratore in qualsiasi posizione della rastrelliera in una corsia dello scomparto dei campioni sul Panther System. Il pipettaggio dei campioni inizierà quando verrà soddisfatta una delle due seguenti condizioni:
 - a. il Panther System sta eseguendo l'elaborazione dei calibratori positivi e negativi;
 - b. sul Panther System vengono registrati risultati validi per i calibratori.
2. Una volta che le provette di calibratore sono state pipettate e sono in corso di elaborazione per un particolare kit di reagenti, è possibile analizzare i campioni con il kit di reagenti del dosaggio associato per un periodo di 24 ore, eccetto nei seguenti casi.
 - a. I calibratori non sono validi.
 - b. Il kit di reagenti del test associato viene rimosso dal Panther System.
 - c. Il kit di reagenti del dosaggio associato ha superato i limiti di stabilità.
3. Se si tenta di pipettare più di due replicati da una provetta di calibratore, è possibile che si verifichino errori di volume insufficiente.

B. Temperatura

Per temperatura ambiente si intende un range di temperatura da 15 a 30 °C.

C. Talco dei guanti

Come in qualsiasi sistema di reazione, il talco eccessivo in alcuni guanti può causare la contaminazione di provette aperte. Si consigliano guanti privi di talco.

Procedure di controllo della qualità

A. Criteri di validità del ciclo di analisi

Il software stabilisce automaticamente la validità del ciclo di analisi. Il software considera non valido un ciclo di analisi se si verifica una qualsiasi delle seguenti condizioni.

- Più di un replicato di calibratore negativo non valido.
- Più di un replicato di calibratore positivo 1 non valido.
- Più di un replicato di calibratore positivo 2 non valido.
- Più di 1 dei 6 replicati del calibratore non validi combinati.

Un ciclo di analisi può essere considerato non valido da un operatore se si osservano e si documentano durante il dosaggio difficoltà tecniche, dell'operatore o dello strumento.

Un ciclo di analisi non valido deve essere ripetuto. Le sessioni analitiche annullate devono essere ripetute.

B. Criteri di accettazione dei calibratori

La tabella qui sotto definisce i criteri RLU per i replicati dei calibratori negativo e positivo.

	Panther System
Calibratore negativo	
18/45 RLU	$Fra \geq 0 \text{ e } \leq 60.000 \text{ RLU}$
IC/16 RLU	$Fra \geq 75.000 \text{ e } \leq 300.000 \text{ RLU}$
Calibratore positivo 1	
18/45 RLU	$Fra \geq 800.000 \text{ e } \leq 2.200.000 \text{ RLU}$
IC/16 RLU	$\leq 475.000 \text{ RLU}$
Calibratore positivo 2	
18/45 RLU	$\leq 115.000 \text{ RLU}$
IC/16 RLU	$Fra \geq 625.000 \text{ e } \leq 4.000.000 \text{ RLU}$

C. IC Cutoff

Il cutoff dell'IC viene determinato dal segnale dell'analita IC/16 proveniente dai replicati validi del calibratore negativo.

$$\text{IC Cutoff} = 0,5 \times [\text{RLU media IC/16 dei replicati validi del calibratore negativo}]$$

D. Cutoff analita 16

Il cutoff dell'analita per l'HPV 16 viene determinato in base al segnale RLU IC/16 proveniente dai replicati validi del calibratore negativo e dai replicati validi del calibratore positivo 2.

$$\text{Cutoff analita 16} = 2 \times [\text{RLU media IC/16 dei replicati validi del calibratore negativo}] + 0,1 \times [\text{RLU media IC/16 dei replicati validi del calibratore positivo 2}]$$

E. Cutoff analita 18/45

Il cutoff dell'analita per l'HPV 18/45 viene determinato in base al segnale RLU 18/45 proveniente dai replicati validi del calibratore negativo e dai replicati validi del calibratore positivo 1.

$$\text{Cutoff analita 18/45} = 1 \times [\text{RLU media 18/45 dei replicati validi del calibratore negativo}] + 0,18 \times [\text{RLU media 18/45 dei replicati validi del calibratore positivo 1}]$$

F. Rapporto segnale/cutoff (signal-to-cutoff, S/CO) dell'analita 16

Il valore S/CO dell'analita per HPV 16 è determinato dal segnale RLU IC/16 del campione di test e il cutoff analita 16 della sessione analitica.

$$S/CO \text{ analita } 16 = \frac{RLU \text{ IC/16 del campione di test}}{cutoff \text{ analita } 16}$$

G. Rapporto segnale/cutoff (signal-to-cutoff, S/CO) dell'analita 18/45

Il valore S/CO dell'analita per HPV 18/45 è determinato dal segnale RLU 18/45 del campione di test e il cutoff analita 18/45 della sessione analitica.

$$S/CO \text{ analita } 18/45 = \frac{RLU \text{ 18/45 del campione di test}}{cutoff \text{ analita } 18/45}$$

Interpretazione del test

I risultati del test vengono determinati automaticamente dal software di dosaggio. Un risultato del test può essere negativo sia per HPV 16 che per HPV 18/45, negativo per HPV 16 e positivo per HPV 18/45, positivo per HPV 16 e negativo per HPV 18/45, positivo per entrambi HPV 16 e HPV 18/45 oppure non valido, come determinato dall'RLU IC e dai rapporti S/CO descritti nella tabella seguente. Un risultato del test può essere non valido anche a causa di altri parametri (ad esempio, forma della curva cinetica anomala) che si trovano al di fuori dei normali intervalli previsti. I risultati del test non validi devono essere ripetuti.

I campioni prelevati con il kit CSCT possono essere diluiti per eliminare la potenziale interferenza di sostanze inibitorie. Diluire 1 parte del campione non valido in 8 parti di terreno di trasporto (la soluzione presente nelle provette del kit CSCT), ad es. 560 µl di campione in una nuova provetta del kit CSCT contenente 4,5 ml di terreno di trasporto del campione. Capovolgere con attenzione il campione per miscelarlo, evitando di creare schiuma. Analizzare il campione diluito secondo la procedura di dosaggio standard.

Nota: Non diluire i campioni diluiti non validi. Se un campione diluito produce un risultato non valido, occorre ottenere un nuovo campione dal paziente.

Risultato di Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay	Criteri
Negativo - 16 Negativo - 18/45	<i>RLU IC/HPV 16 \geq IC Cutoff e S/CO HPV 16 $<$ 1,00 e S/CO HPV 18/45 $<$ 1,00</i>
Negativo - 16 Positivo - 18/45	<i>S/CO HPV 16 $<$ 1,00 e S/CO HPV 18/45 $<$ 1,00 e RLU HPV 18/45 \leq 3.000.000</i>
Positivo - 16 Negativo - 18/45	<i>S/CO HPV 16 \geq 1,00 e RLU IC/HPV 16 \leq 4.000.000 e S/CO HPV 18/45 $<$ 1,00</i>
Positivo - 16 Positivo - 18/45	<i>S/CO HPV 16 \geq 1,00 e RLU IC/HPV 16 \leq 4.000.000 e S/CO HPV 18/45 \geq 1,00 e RLU HPV 18/45 \leq 3.000.000</i>
Non valido	<i>S/CO HPV 16 $<$ 1,00 e S/CO HPV 18/45 $<$ 1,00 e RLU IC/HPV 16 $<$ IC Cutoff oppure RLU IC/HPV 16 $>$ 4.000.000 oppure RLU HPV 18/45 $>$ 3.000.000</i>

Limiti

- A. I tipi di campioni diversi da quelli identificati nell'uso previsto non sono stati valutati.
- B. Le prestazioni di Aptima HPV 16 18/45 genotype assay non sono state valutate per i soggetti vaccinati contro l'HPV.
- C. L'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay non è stato valutato nei casi di sospetto abuso sessuale.
- D. La prevalenza dell'infezione da HPV in una popolazione può influire sulle prestazioni del test. I valori predittivi positivi diminuiscono quanto vengono testate popolazioni con bassa prevalenza o individui non a rischio di infezione.
- E. I campioni per citologia in fase liquida ThinPrep che contengono meno di 1 ml dopo la preparazione del vetrino per Pap test ThinPrep vengono considerati non adeguati per Aptima HPV 16 18/45 genotype assay.
- F. La raccolta, la conservazione o l'elaborazione inadeguati dei campioni possono influire sui risultati del test.
- G. Il controllo interno esegue il monitoraggio delle fasi del test di cattura del target, amplificazione e rilevamento, non a controllare l'adeguatezza del prelievo cervicale.
- H. Un risultato negativo di Aptima HPV 16 18/45 genotype assay non esclude la possibilità di anomalie citologiche o CIN2, CIN3 oppure cancro futuri o latenti.
- I. L'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay fornisce risultati qualitativi. Non può quindi essere tracciata una correlazione fra I[APOS]intensità di un segnale positivo del dosaggio e il livello di espressione di mRNA in un campione.
- J. Il rilevamento dell'mRNA dell'HPV ad alto rischio (tipi 16, 18 e 45) dipende dal numero di copie presenti nel campione e può essere influenzato dai metodi di prelievo del campione, da fattori legati al paziente, dallo stadio dell'infezione e dalla presenza di sostanze interferenti.
- K. L'infezione da HPV non è indicativa della presenza di HSIL (lesione intraepiteliale squamosa di alto grado) citologica o di CIN di alto grado latente, né implica lo sviluppo di CIN2, CIN3 o cancro. La maggior parte delle donne infette da uno o più tipi di HPV ad alto rischio non sviluppano CIN2, CIN3 né cancro.
- L. Le seguenti sostanze possono interferire con le prestazioni del test, se presenti in concentrazioni superiori a quelle specificate: lubrificanti vaginali (contenenti Polyquaternium 15) in concentrazione 1% p/v, crema antimicotica (contenente tioconazolo) in concentrazione 0,03% p/v, muco in concentrazione 0,3% p/v, ormoni intravaginali (contenenti progesterone) in concentrazione 1% p/v, Trichomonas vaginalis in concentrazione di 3×10^4 cellule/ml.
- M. Elevate concentrazioni di HPV 45 possono ridurre la capacità di Aptima HPV 16 18/45 genotype assay di rilevare la presenza dell'HPV 16 a basse concentrazioni.
- N. Gli effetti di altre potenziali variabili come le secrezioni vaginali, l'uso di tamponi ecc. e le variabili correlate al prelievo del campione non sono stati valutati.
- O. L'uso di questo dispositivo può essere limitato al personale formato per l'uso di Aptima HPV 16 18/45 genotype assay.
- P. La contaminazione crociata di campioni può causare risultati falsi positivi. Il tasso di contaminazione crociata di Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sul Panther System è dello 0,19%, come determinato in uno studio non clinico.
- Q. I risultati di Aptima HPV 16 18/45 genotype assay devono essere interpretati unitamente agli altri dati clinici e di laboratorio a disposizione del medico.

Risultati attesi con il Panther System: prevalenza di mRNA dell'HPV ad alto rischio

La prevalenza delle infezioni da HPV ad alto rischio varia notevolmente ed è influenzata da diversi fattori, fra i quali soprattutto l'età. Molti studi hanno esaminato la prevalenza dell'HPV in base ai dati ottenuti dal rilevamento del DNA dell'HPV, tuttavia sono pochi gli studi che riportano la prevalenza in base al rilevamento dell'mRNA dell'HPV oncogeno. Donne provenienti da numerosi centri clinici (n = 18) rappresentative di un'ampia distribuzione geografica e di una popolazione variegata (10 Stati all'interno degli Stati Uniti) sono state inserite in uno studio clinico prospettico noto come sperimentazione CLEAR per valutare l'Aptima HPV assay, che consente di individuare 14 tipi di HPV ad alto rischio. I campioni prelevati dalle donne inserite nella sperimentazione CLEAR con risultati positivi all'Aptima HPV assay sul Panther System sono stati valutati in tre centri di analisi con Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sul Panther System in uno studio clinico separato. La prevalenza dell'HPV 16, 18/45 come pure dei restanti 11 tipi di HPV ad alto rischio, osservata nello studio clinico in base ai risultati dei test eseguiti con Aptima HPV assay e con Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sul Panther System, è stata suddivisa in categorie, complessivamente, per gruppo di età e per centro di analisi. Un risultato negativo all'Aptima HPV assay sul Panther System indica che non è presente nessuno dei 14 tipi di HPV ad alto rischio e che questi tipi sono stati designati come negativi per Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sul Panther System per lo scopo dell'analisi. I risultati sono riportati nella Tabella 1 per le popolazioni ASC-US (cellule squamose atipiche di significato indeterminato) e NILM (negative per lesione intraepiteliale o malignità).

Tabella 1: Prevalenza di mRNA dell'HPV ad alto rischio nelle popolazioni suddivise per gruppo di età, centro di analisi e complessiva

	Percentuale di positività % (x/n)							
	Popolazione ASC-US (≥ 21 anni)				Popolazione NILM (≥ 30 anni)			
	Pos HPV 16	Pos HPV 18/ 45	Pos HPV 16 e 18/45	Pos 11 altri tipi HR*	Pos HPV 16	Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	Pos 11 altri tipi HR*
Tutti	7,8 (71/911)	5,3 (48/911)	0,3 (3/911)	26,0 (237/911)	0,5 (50/10.839)	0,5 (49/10.839)	< 0,1 (1/10.839)	3,6 (391/10.839)
Gruppo di età (anni)								
Da 21 a 29	13,4 (52/388)	5,2 (20/388)	0,5 (2/388)	37,9 (147/388)	N/P	N/P	N/P	N/P
Da 30 a 39	5,5 (14/255)	6,7 (17/255)	0,4 (1/255)	23,1 (59/255)	0,7 (31/4.183)	0,7 (31/4.183)	0 (0/4.183)	5,1 (215/4.183)
≥ 40	1,9 (5/268)	4,1 (11/268)	0 (0/268)	11,6 (31/268)	0,3 (19/6.656)	0,3 (18/6.656)	< 0,1 (1/6.656)	2,6 (176/6.656)
Centro di analisi**								
1	5,6 (17/304)	6,6 (20/304)	0,3 (1/304)	27,0 (82/304)	0,4 (16/3.610)	0,4 (16/3.610)	< 0,1 (1/3.610)	3,6 (130/3.610)
2	9,6 (29/303)	3,6 (11/303)	0,3 (1/303)	26,4 (80/303)	0,5 (18/3.614)	0,4 (15/3.614)	0 (0/3.614)	3,6 (130/3.614)
3	8,2 (25/304)	5,6 (17/304)	0,3 (1/304)	24,7 (75/304)	0,4 (16/3.615)	0,5 (18/3.615)	0 (0/3.615)	3,6 (131/3.615)

N/P = non pertinente, HR = alto rischio, Pos = positivo

Nota: le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sul Panther System sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sul Panther System per lo scopo dell'analisi.

* HPV di tipo 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68

** Nella popolazione NILM, non tutti i soggetti con risultati negativi all'Aptima HPV assay sul Panther System sono stati analizzati con Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sul Panther System. Per l'analisi effettuata in base al centro di analisi, i risultati per queste donne sono stati assegnati in modo casuale ad uno dei 3 centri.

Prestazioni del test Panther System

L'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay è stato lanciato inizialmente sul sistema Tigris DTS nel 2012. Nel 2013 le indicazioni d'uso sono state estese all'utilizzo dell'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sul Panther System. Il Panther System è una piattaforma di strumenti più piccola e alternativa al sistema Tigris DTS. Entrambi i sistemi sono concepiti per la completa automazione dell'analisi dell'acido nucleico amplificato nei test diagnostici. Determinati test di prestazione eseguiti sul sistema Tigris DTS sono stati utilizzati per supportare le prestazioni di analisi sul Panther System.

Progetto di sperimentazione clinica di Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con campioni per citologia in fase liquida ThinPrep

L'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay su Panther System è stato valutato utilizzando campioni citologici di riferimento prelevati da donne consenzienti durante lo studio clinico prospettico multicentrico effettuato negli Stati Uniti, noto come sperimentazione CLEAR.

Sperimentazione CLEAR - valutazione di base

La sperimentazione CLEAR è stata condotta allo scopo di determinare le prestazioni cliniche dell'Aptima HPV assay sul sistema Tigris DTS per il rilevamento della neoplasia intraepiteliale cervicale di grado 2 o di cervicopatie di più gravi (\geq CIN2). Nella sperimentazione CLEAR sono state incluse una valutazione di base una valutazione di follow-up di 3 anni. Le donne sono state inserite nello studio ASC-US o nello studio NILM in base ai propri risultati citologici degli esami di riferimento eseguiti in fase liquida ThinPrep ottenuti durante uno screening routinario del tumore della cervice. La popolazione dello studio ASC-US includeva donne di età pari o superiore a 21 anni con risultati citologici ASC-US e la popolazione dello studio NILM includeva donne di età pari o superiore a 30 anni con risultati citologici NILM.

Sono state analizzate donne di 18 centri clinici, principalmente cliniche di ostetricia e ginecologia, provenienti complessivamente da un'ampia area geografica e rappresentanti di una popolazione variegata. Inizialmente i campioni citologici residui di riferimento sono stati analizzati sia con Aptima HPV assay sul sistema Tigris DTS sia con un test del DNA dell'HPV approvato dall'FDA. Tali campioni sono stati quindi suddivisi in aliquote che sono state conservate a -70 °C fino a quando non sono state testate con Aptima HPV 16 18/45 genotype assay su Panther System nella sperimentazione clinica con Aptima HPV 16 18/45 genotype assay.

Al basale, tutte le donne inserite nello studio ASC-US sono state sottoposte a colposcopia, indipendentemente dai risultati del test con Aptima HPV assay sul sistema Tigris DTS e del test del DNA dell'HPV approvato dall'FDA. È stata eseguita una biopsia con raschiamento endocervicale (ECC) e una biopsia con puntura cervicale (1 biopsia da ciascuno dei 4 quadranti). In presenza di lesioni visibili, la biopsia è stata eseguita con puntura (metodo diretto, 1 biopsia per lesione), mentre per i quadranti che non mostravano lesioni visibili la biopsia è stata eseguita alla giunzione squamo-colonnare (metodo random).

Nello studio NILM, le donne positive all'Aptima HPV assay sul sistema Tigris DTS e/o al test del DNA dell'HPV approvato dall'FDA, come pure donne scelte a caso e negative a entrambi i test sono state sottoposte a colposcopia per una valutazione preliminare. A ciascuna donna sottoposta a colposcopia è stata effettuata una biopsia ECC. Le biopsie sono state effettuate con puntura solo in presenza di lesioni visibili (metodo diretto, 1 biopsia per lesione).

Lo stato di malattia è stato determinato mediante un comitato di revisione dei risultati istologici, basato sulla valutazione concordante di almeno 2 patologi esperti. I patologi esperti sono stati tenuti all'oscuro dello stato citologico e di infezione da HPV delle donne, nonché delle rispettive diagnosi istologiche. Se i 3 patologi erano in disaccordo, tutti e 3 rivedevano i vetrini in un microscopio multi-head fino a raggiungere il consenso. Per evitare il bias, gli sperimentatori, i medici e le donne sono stati tenuti all'oscuro dei risultati del test dell'HPV fino al completamento dell'esame colposcopico.

Inizialmente sono state valutate le prestazioni cliniche di Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sul Panther System per il rilevamento di CIN2 o di grado superiore (\geq CIN2) e di neoplasia intraepiteliale cervicale di grado 3 o superiore (\geq CIN3) in relazione allo stato della cervicopatìa determinata all'inizio.

Sperimentazione CLEAR – valutazione di follow-up

Le donne dello studio NILM provenienti da 14 centri clinici hanno potuto partecipare alla fase di follow-up di 3 anni se: i) avevano fatto un esame colposcopico preliminare e non presentavano \geq CIN2, oppure ii) non avevano fatto alcun esame colposcopico preliminare. La fase di follow-up dello studio consisteva in visite annuali. In occasione di tali visite per ogni donna venivano eseguiti campionamenti cervicali, e alcune donne sono state sottoposte anche a un test dell'HPV approvato dall'FDA. Le donne che durante il periodo di follow-up mostravano ASC-US o risultati citologici più rilevanti sono state sottoposte a colposcopia utilizzando la stessa procedura biotica e di esame istologico eseguita per la valutazione preliminare. Lo stato della cervicopatìa in occasione delle visite di follow-up veniva considerato "negativo" sulla base della citologia NILM oppure, per le donne con risultati citologici anomali, sulla base della normalità o di CIN1 mediante il comitato di revisione dei risultati istologici. Le donne per le quali è stato rilevato \geq CIN2 durante il periodo di follow-up sono state considerate come aventi completato il follow-up e non sono andate alle visite dopo il rilevamento di \geq CIN2. Le donne per le quali non è stato rilevato \geq CIN2 durante il periodo di follow-up ma che sono andate alla visita nell'anno 1 di follow-up e/o nell'anno 2 di follow-up che sono state alla visita nell'anno 3 di follow-up sono state considerate come aventi completato il follow-up.

Lo scopo dello studio di follow-up era confrontare il rischio complessivo in 3 anni di sviluppare cervicopatìa nelle donne con risultati preliminari positivi all'Aptima HPV assay e risultati preliminari positivi all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay con il rischio complessivo in 3 anni di sviluppare cervicopatìa nelle donne con risultati preliminari positivi all'Aptima HPV assay e risultati preliminari negativi all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Lo stato della cervicopatìa a 3 anni è stato determinato come segue:

- Stato di cervicopatìa positiva (\geq CIN2 e/o \geq CIN3) – Donne per le quali è stato rilevato \geq CIN2 preliminarmente o durante il follow-up.
- Stato di cervicopatìa negativa ($<$ CIN2) – Donne che hanno completato il follow-up senza rilevamento di \geq CIN2 e che non sono state considerate come aventi una cervicopatìa "indeterminata".
- Stato di cervicopatìa indeterminata – Donne che hanno ricevuto risultati citologici anomali durante il follow-up e che non hanno ricevuto un successivo risultato consensuale del comitato di revisione dei risultati istologici, oppure donne con risultati citologici inadeguati all'ultima visita.
- Mancato completamento del follow-up – Donne che non hanno completato il follow-up e per le quali non è stato rilevato uno stato di cervicopatìa "indeterminato".

Le prestazioni cliniche di Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per il rilevamento di \geq CIN2 e \geq CIN3 sono state valutate in relazione allo stato della cervicopatìa nei 3 anni.

Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: prestazioni cliniche di Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con campioni per citologia in fase liquida ThinPrep

Complessivamente, sono state valutate 404 donne di età pari o superiore a 21 anni con risultati citologici ASC-US e risultati positivi all'Aptima HPV assay sul Panther System, i cui campioni citologici di riferimento sono risultati idonei per l'analisi con Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sul Panther System. Di queste, 45 non avevano un volume sufficiente di campioni citologici di riferimento da analizzare in questo studio e 6 hanno avuto una diagnosi di malattia indeterminata; dopo un'analisi dei valori mancanti, queste donne sono state escluse dai calcoli delle prestazioni. Le 353 donne valutabili con stato conclamato della malattia hanno fornito risultati validi con l'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sul Panther System in base al reflex test da un risultato positivo con Aptima HPV assay sul Panther System. Sessantasette (67) donne hanno avuto una diagnosi \geq CIN2 e 30 hanno avuto una diagnosi \geq CIN3.

Delle 353 donne valutabili con risultati positivi con Aptima HPV assay sul Panther System, per 118 donne i risultati sono stati positivi con Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sul Panther System, indicativi della presenza dell'HPV 16 e/o dell'HPV 18/45; per 235 i risultati sono stati negativi, indicativi della presenza di uno o più degli altri 11 tipi di HPV ad alto rischio, come rilevato con Aptima HPV assay (ovvero HPV di tipo 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68). Un altro gruppo di 539 donne valutabili di età pari o superiore a 21 anni con risultati citologici ASC-US ha ricevuto risultati negativi all'Aptima HPV assay sul Panther System. Un risultato negativo all'Aptima HPV assay indica che non è presente nessuno dei 14 tipi di HPV ad alto rischio e che questi tipi sono stati designati come negativi all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sul Panther System per lo scopo dell'analisi. La prevalenza di diagnosi \geq CIN2 e \geq CIN3 nelle donne valutabili con risultati citologici ASC-US è stata rispettivamente del 9,1% e del 3,8%. In Tabella 2 sono illustrati i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay rispetto al risultato dell'Aptima HPV assay e alla diagnosi del comitato di revisione dei risultati istologici, in base all'analisi effettuata con il Panther System.

Tabella 2: Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e dell'Aptima HPV assay ottenuti dal comitato di revisione dei risultati istologici

Risultato dell'Aptima HPV Assay	Risultato dell'AHPV-GT Assay*	Interpretazione	Diagnosi del comitato di revisione dei risultati istologici						
			Indeterminato**	Normale	CIN1	CIN2	CIN3	Cancro	Totale
Positivo	Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Pos HPV 16	1	26	18	11	15	0	71
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 18/45	3	23	16	2	3	1	48
	Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	0	1	0	1	1	0	3
	Neg HPV 16, Neg HPV 18/45	Pos altri HPV HR	2	132	70	23	10	0	237
Totale			6	182	104	37	29	1	359
Negativo	Neg HPV 16/18/ 45***	Neg HPV HR	13	450	75	10	4	0	552
Totale			19	632	179	47	33	1****	911

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, CIN1 = neoplasia intraepiteliale cervicale di grado 1, HR = alto rischio, Neg = negativo, Pos = positivo

*Tutti i campioni hanno fornito risultati finali (dall'analisi finale o dopo la risoluzione dei risultati iniziali non validi per cause procedurali).

**19 donne sono state sottoposte a esame colposcopico ma non è stato possibile effettuare una diagnosi per i seguenti motivi: < 5 campioni bioptici tutti con risultati istologici Normale/CIN1 (n = 15), nessun prelievo bioptico (n = 3) e vetrini di biopsia smarriti (n = 1).

***Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per lo scopo dell'analisi.

****Una donna ha avuto una diagnosi di adenocarcinoma in situ (AIS).

Il rischio assoluto di malattia (\geq CIN2 e \geq CIN3) deducibile dal risultato dell'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay e dal risultato dell'Aptima HPV assay è riportato nella Tabella 3. Il rischio di \geq CIN2 nelle donne in cui era presente l'HPV di tipo 16, 18 e/o 45 è stato del 28,8% rispetto al 14,0% nelle donne in cui erano presenti uno o più degli altri 11 tipi di HPV ad alto rischio e al 2,6% nelle donne in cui non era presente alcun tipo di HPV ad alto rischio. Il rischio assoluto è riportato per gruppo di età nella Tabella 4.

Tabella 3: Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: rischio assoluto di \geq CIN2 e \geq CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e dell'Aptima HPV Assay

Risultato dell'Aptima HPV Assay	Risultato dell'AHPV-GT Assay	Interpretazione	\geq CIN2	\geq CIN3
			Rischio assoluto (CI al 95%)	Rischio assoluto (CI al 95%)
Positivo	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	28,8 (34/118) (22,2, 35,7)	16,9 (20/118) (12,1, 21,8)
	Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Solo Pos HPV 16	37,1 (26/70) (27,4, 47,4)	21,4 (15/70) (13,8, 29,5)
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Solo Pos HPV 18/45	13,3 (6/45) (5,5, 25,1)	8,9 (4/45) (2,9, 19,1)
	Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	66,7 (2/3) (15,2, 98,2)	33,3 (1/3) (1,8, 84,6)
	Neg HPV 16/18/45	Pos altri HPV HR	14,0 (33/235) (10,7, 17,7)	4,3 (10/235) (2,3, 6,7)
	Pos o Neg	Pos HPV HR	19,0 (67/353) (16,8, 21,1)	8,5 (30/353) (7,1, 9,6)
Negativo	Neg HPV 16/18/45*	Neg HPV HR	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)	0,7 (4/539) (0,2, 1,6)
Prevalenza			9,1% (81/892)	3,8% (34/892)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo

*Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Tabella 4: Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: rischio assoluto di \geq CIN2 e \geq CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e dell'Aptima HPV Assay per gruppo d'età

	Risultato dell'Aptima HPV Assay	Risultato dell'AHPV-GT Assay	Interpretazione	\geq CIN2	\geq CIN3
				Rischio assoluto (CI al 95%)	Rischio assoluto (CI al 95%)
Dai 21 ai 29 anni	Positivo	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	27,4 (20/73) (19,0, 36,2)	16,4 (12/73) (10,3, 22,5)
		Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Solo Pos HPV 16	29,4 (15/51) (18,8, 41,1)	19,6 (10/51) (11,3, 28,5)
		Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Solo Pos HPV 18/45	15,0 (3/20) (3,6, 34,6)	5,0 (1/20) (0,2, 21,6)
		Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	100 (2/2) (27,0, 100)	50,0 (1/2) (2,9, 97,1)
		Neg HPV 16/18/45	Pos altri HPV HR	17,1 (25/146) (12,7, 21,7)	5,5 (8/146) (2,8, 8,6)
	Pos o Neg	Pos HPV HR	20,5 (45/219) (17,9, 23,0)	9,1 (20/219) (7,5, 10,2)	
	Negativo	Neg HPV 16/18/45*	Neg HPV HR	4,2 (7/166) (1,9, 7,6)	0,6 (1/166) (0,0, 2,7)
Prevalenza				13,5% (52/385)	5,5% (21/385)
Dai 30 ai 39 anni	Positivo	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	30,0 (9/30) (16,5, 43,9)	16,7 (5/30) (6,9, 26,2)
		Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Solo Pos HPV 16	50,0 (7/14) (24,2, 74,2)	21,4 (3/14) (5,1, 41,6)
		Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Solo Pos HPV 18/45	13,3 (2/15) (1,3, 35,2)	13,3 (2/15) (1,3, 32,1)
		Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	0 (0/1) (0,0, 93,5)	0 (0/1) (0,0, 93,3)
		Neg HPV 16/18/45	Pos altri HPV HR	12,1 (7/58) (5,7, 19,5)	3,4 (2/58) (0,5, 8,5)
	Pos o Neg	Pos HPV HR	18,2 (16/88) (13,4, 22,3)	8,0 (7/88) (4,6, 10,0)	
	Negativo	Neg HPV 16/18/45*	Neg HPV HR	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)
Prevalenza				7,6% (19/251)	3,2% (8/251)
\geq 40 anni	Positivo	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e/o HPV 18/45	33,3 (5/15) (12,4, 55,0)	20,0 (3/15) (4,1, 36,0)
		Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Solo Pos HPV 16	80,0 (4/5) (36,8, 99,0)	40,0 (2/5) (6,3, 78,2)
		Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Solo Pos HPV 18/45	10,0 (1/10) (0,4, 36,6)	10,0 (1/10) (0,4, 33,1)
		Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	--- (0/0)	--- (0/0)
		Neg HPV 16/18/45	Pos altri HPV HR	3,2 (1/31) (0,1, 13,2)	0 (0/31) (0,0, 7,8)
	Pos o Neg	Pos HPV HR	13,0 (6/46) (6,1, 19,7)	6,5 (3/46) (1,7, 10,9)	
	Negativo	Neg HPV 16/18/45*	Neg HPV HR	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)
Prevalenza				3,9% (10/256)	2,0% (5/256)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo

*Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Il rischio relativo di malattia per i risultati positivi all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay rispetto ai risultati negativi è riportato nella Tabella 5. Nelle donne in cui è stata riscontrata la presenza dell'HPV di tipo 16, 18 e/o 45, la probabilità di avere una diagnosi \geq CIN2 è stata 11,1 volte maggiore e la probabilità di avere una diagnosi \geq CIN3 è stata 22,8 volte maggiore rispetto alle donne in cui non è stato riscontrato alcun tipo di HPV ad alto rischio. Nelle donne in cui è stata riscontrata la presenza di HPV di tipo 16, 18 e/o 45, la probabilità di avere una diagnosi \geq CIN2 è stata 2,1 volte maggiore e la probabilità di avere una diagnosi \geq CIN3 è stata 4,0 volte maggiore rispetto alle donne in cui sono stati riscontrati uno o più degli altri 11 tipi di HPV ad alto rischio.

Tabella 5: Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: rischio relativo di \geq CIN2 e \geq CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e dell'Aptima HPV Assay

Interpretazione dei risultati dell'Aptima Assay*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Rischio relativo (CI al 95%)	Rischio relativo (CI al 95%)
Positivo all'HPV 16 e/o 18/45 rispetto a negativo all'HPV HR	11,1 (6,2, 20,0)	22,8 (8,0, 65,6)
Positivo all'HPV 16 e/o 18/45 rispetto a positivo agli altri HPV HR	2,1 (1,3, 3,1)	4,0 (1,9, 8,2)
Positivo agli altri HPV HR rispetto a negativo all'HPV HR	5,4 (2,9, 9,9)	5,7 (1,8, 18,1)
Positivo all'HPV HR rispetto a negativo all'HPV HR	7,3 (4,2, 12,8)	11,5 (4,1, 32,2)
Prevalenza	9,1% (81/892)	3,8% (34/892)

CI = intervallo di confidenza, HR = alto rischio

*Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per lo scopo dell'analisi.

I rapporti di verosimiglianza (\geq CIN2 e \geq CIN3) deducibili dal risultato dell'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sono riportati nella Tabella 6. L'HPV di tipo 16, 18 e/o 45 è stato riscontrato con una probabilità 4,1 volte superiore in una donna con \geq CIN2 e 5,2 volte superiore in una donna con \geq CIN3.

Tabella 6: Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: rapporti di verosimiglianza per \geq CIN2 e \geq CIN3 in base ai risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e dell'Aptima HPV Assay

Interpretazione dei risultati dell'Aptima Assay*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Rapporto di verosimiglianza (CI al 95%)	Rapporto di verosimiglianza (CI al 95%)
Positivo all'HPV 16 e/o 18/45	4,1 (2,9, 5,6)	5,2 (3,5, 7,0)
Positivo agli altri HPV HR	1,6 (1,2, 2,1)	1,1 (0,6, 1,8)
Negativo all'HPV HR	0,3 (0,2, 0,4)	0,2 (0,1, 0,4)

CI = intervallo di confidenza, HR = alto rischio

*Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: prestazioni cliniche di Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con campioni per citologia in fase liquida ThinPrep iniziali

Complessivamente, sono state valutate 512 donne di età pari o superiore a 30 anni con risultati citologici NILM e risultati positivi all'Aptima HPV assay sul Panther System, i cui campioni citologici di riferimento sono risultati idonei per l'analisi con Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Di queste, 21 (11 sono state sottoposte a colposcopia e 10 no) non avevano un volume sufficiente di campioni citologici di riferimento da analizzare in questo studio; dopo un'analisi dei valori mancanti, queste donne sono state escluse dai calcoli delle prestazioni. Le 491 donne valutabili avevano risultati validi per l'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Di queste, 273 sono state sottoposte a colposcopia. Quattordici (14) donne hanno ricevuto una diagnosi \geq CIN2 e 10 una diagnosi \geq CIN3; 245 donne hanno avuto una diagnosi istologica Normale/CIN1; 14 donne hanno avuto una diagnosi di stato indeterminato della malattia.

Delle 259 donne valutabili con stato conclamato della malattia e risultati positivi all'Aptima HPV assay sul Panther System, 65 hanno avuto risultati positivi all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sul Panther System, indicativi della presenza dell'HPV 16 e/o dell'HPV 18/45; 194 hanno avuto risultati negativi indicativi della presenza di uno o più degli altri 11 tipi di HPV ad alto rischio. Un altro gruppo di 549 donne valutabili di età pari o superiore a 30 anni con risultati citologici NILM e stato conclamato della malattia ha fornito risultati negativi all'Aptima HPV assay sul Panther System. Un risultato negativo all'Aptima HPV assay indica che non è presente nessuno dei 14 tipi di HPV ad alto rischio e che questi tipi sono stati designati come negativi all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sul Panther System per lo scopo dell'analisi. I risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay rispetto al risultato dell'Aptima HPV assay e alla diagnosi effettuata dal comitato di revisione dei risultati istologici sono riportati nella Tabella 7.

Tabella 7: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e dell'Aptima HPV Assay ottenuti preliminarmente dal comitato di revisione dei risultati istologici

Risultato dell'Aptima HPV Assay	Risultato dell'AHPV-GT Assay*	Interpretazione	Diagnosi del comitato di revisione dei risultati istologici						
			Indeterminato**	Normale	CIN1	CIN2	CIN3	Cancro	Totale
Positivo	Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Pos HPV 16	2	28	0	0	3	1	34
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 18/45	1	28	1	1	0	2	33
	Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	0	1	0	0	0	0	1
	Neg HPV 16, Neg HPV 18/45	Pos altri HPV HR	11	175	12	3	4	0	205
Totale			14	232	13	4	7	3	273
Negativo	Neg HPV 16/18/ 45***	Neg HPV HR	31	527	16	5	1	0	580
Totale			45	759	29	9	8	3****	853

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo

*Tutti i campioni hanno fornito risultati finali validi (dall'analisi iniziale o dopo la risoluzione dei risultati iniziali non validi per cause procedurali).

**45 donne sono state sottoposte a esame colposcopico ma non è stato possibile effettuare una diagnosi per i seguenti motivi: non è stato raggiunto il consenso a causa dei campioni inadeguati (n = 29), nessun prelievo biotico a causa di fattori sottesi (n = 13), nessun prelievo o esame biotico effettuato a causa di errori (n = 3).

***Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per lo scopo dell'analisi.

****Tre donne hanno avuto una diagnosi di adenocarcinoma in situ (AIS).

Delle 491 donne con risultati positivi all'Aptima HPV assay sul Panther System e risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sul Panther System, 232 donne hanno avuto una diagnosi di stato della malattia non verificato (incluso lo stato non determinato) (Tabella 8). Delle 10.348 donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay ottenuti dalla sperimentazione CLEAR originale, 9.799 hanno avuto una diagnosi di stato della malattia non verificato. Poiché lo studio era stato concepito in modo tale da sottoporre a colposcopia solo donne scelte a caso con risultati negativi sia all'Aptima HPV assay sul sistema Tigris DTS che al test del DNA approvato dall'FDA, in questo gruppo la percentuale di donne con stato della malattia non verificato è stata elevata (96,2%). Per correggere questo bias di verifica, è stato utilizzato un metodo di imputazione multipla per stimare il numero di donne con malattia che sarebbe stato identificato se tutte fossero state sottoposte a colposcopia. Per questo metodo, lo stato mancante della malattia è stato imputato sulla base dei risultati dell'Aptima HPV assay sul Panther System, dell'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sul Panther System e del test del DNA dell'HPV approvato dall'FDA. Sono state riportate sia le stime delle prestazioni adattate per il bias di verifica sia le stime delle prestazioni non adattate, basate sulle 808 donne con stato della malattia verificato.

Tabella 8: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: classificazione delle donne NILM valutabili in base ai risultati dell'Aptima HPV Assay, dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, del test del DNA dell'HPV, allo stato della malattia (\geq CIN2 e \geq CIN3) e allo stato di verifica della malattia iniziale

Risultato dell'Aptima HPV Assay*	Risultato dell'AHPV-GT Assay*	Test del DNA dell'HPV	Donne totali	Stato della malattia verificato: \geq CIN2		Stato della malattia verificato: \geq CIN3		Stato della malattia non verificato
				Donne malate (\geq CIN2)	Donne non malate (<CIN2)	Donne malate (\geq CIN3)	Donne non malate (<CIN3)	Donne con stato della malattia sconosciuto (% sconosciuto)
Positivo	Positivo	Positivo	88	6	52	5	53	30 (34,1%)
	Positivo	Negativo	10	1	5	1	5	4 (40,0%)
	Positivo	Nessun risultato**	2	0	1	0	1	1 (50,0%)
	Negativo	Positivo	291	7	169	4	172	115 (39,5%)
	Negativo	Negativo	85	0	14	0	14	71 (83,5%)
	Negativo	Nessun risultato**	15	0	4	0	4	11 (73,3%)
Totale			491	14	245	10	249	232 (47,3%)
Negativo	N/P***	Positivo	282	3	177	1	179	102 (36,2%)
	N/P***	Negativo	9.467	2	362	0	364	9.103 (96,2%)
	N/P***	Nessun risultato**	599	1	4	0	5	594 (99,2%)
Totale			10.839	20	788	11	797	10.031 (92,5%)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, N/P = non pertinente

*Tutti i campioni hanno fornito risultati finali validi (dall'analisi iniziale o dopo la risoluzione dei risultati iniziali non validi per cause procedurali).

**Per 616 donne con risultati dell'Aptima HPV assay non è stato possibile ottenere i risultati del test del DNA dell'HPV principalmente a causa del volume insufficiente di campione citologico.

***Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Il rischio assoluto di malattia adattato (\geq CIN2 e \geq CIN3) deducibile dal risultato dell'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay e dal risultato dell'Aptima HPV assay è riportato nella Tabella 9a. Il rischio di \geq CIN2 nelle donne in cui era presente l'HPV di tipo 16, 18 e/o 45 è stato del 9,7% rispetto al 3,2% nelle donne in cui erano presenti uno o più degli altri 11 tipi di HPV ad alto rischio e allo 0,7% nelle donne in cui non era presente alcun tipo di HPV ad alto rischio. Il rischio assoluto di malattia non adattato è riportato complessivamente nella Tabella 9b e per gruppo di età nella Tabella 10.

Tabella 9a: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rischio assoluto di \geq CIN2 e \geq CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e dell'Aptima HPV Assay (stime adattate per il bias di verifica) iniziali

Risultato dell'Aptima HPV Assay	Risultato dell'AHPV-GT Assay	Interpretazione	\geq CIN2	\geq CIN3
			Rischio assoluto (CI al 95%)	Rischio assoluto (CI al 95%)
Positivo	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e/o HPV 18/45	9,7 (4,6, 20,2)	8,5 (3,8, 19,2)
	Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Solo Pos HPV 16	10,4 (4,0, 27,1)	10,3 (3,9, 27,1)
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Solo Pos HPV 18/45	8,8 (2,9, 26,4)	6,5 (1,7, 25,1)
	Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	0,0	0,0
	Neg HPV 16/18/45	Pos altri HPV HR	3,2 (1,6, 6,3)	1,8 (0,6, 4,9)
	Pos o Neg	Pos HPV HR	4,6 (2,8, 7,4)	3,2 (1,7, 5,9)
Negativo	Neg HPV 16/18/45*	Neg HPV HR	0,7 (0,2, 2,5)	0,2 (0,0, 4,8)
Prevalenza			1,1%	0,8%

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo, N/P = non pertinente

*Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Tabella 9b: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rischio assoluto di \geq CIN2 e \geq CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e dell'Aptima HPV Assay (stime non adattate) iniziali

Risultato dell'Aptima HPV Assay	Risultato dell'AHPV-GT Assay	Interpretazione	\geq CIN2	\geq CIN3
			Rischio assoluto (CI al 95%)	Rischio assoluto (CI al 95%)
Positivo	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e/o HPV 18/45	10,8 (7/65) (5,1, 17,7)	9,2 (6/65) (4,3, 14,2)
	Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Solo Pos HPV 16	12,5 (4/32) (3,7, 25,2)	12,5 (4/32) (3,9, 23,1)
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Solo Pos HPV 18/45	9,4 (3/32) (2,2, 21,8)	6,3 (2/32) (0,9, 16,8)
	Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	0,0 (0/1) (0,0, 93,5)	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)
	Neg HPV 16/18/45	Pos altri HPV HR	3,6 (7/194) (1,7, 6,0)	2,1 (4/194) (0,7, 3,9)
	Pos o Neg	Pos HPV HR	5,4 (14/259) (3,7, 6,8)	3,9 (10/259) (2,6, 4,5)
Negativo	Neg HPV 16/18/45*	Neg HPV HR	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)
Prevalenza			2,5% (20/808)	1,4% (11/808)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo, N/P = non pertinente

*Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Tabella 10: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rischio assoluto di \geq CIN2 e \geq CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e dell'Aptima HPV Assay per gruppo di età (stime non adattate) iniziali

	Risultato dell'Aptima HPV Assay	Risultato dell'AHPV-GT Assay	Interpretazione	\geq CIN2	\geq CIN3
				Rischio assoluto (CI al 95%)	Rischio assoluto (CI al 95%)
Dai 30 ai 39 anni	Positivo	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e/o HPV 18/45	8,1 (3/37) (2,0, 16,4)	5,4 (2/37) (0,9, 12,3)
		Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Solo Pos HPV 16	0 (0/17) (0,0, 15,5)	0 (0/17) (0,0, 14,3)
		Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Solo Pos HPV 18/45	15,0 (3/20) (3,9, 30,6)	10,0 (2/20) (1,0, 22,8)
		Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	N/P (0/0)	N/P (0/0)
		Neg HPV 16/18/45	Pos altri HPV HR	3,6 (4/111) (1,2, 6,2)	2,7 (3/111) (0,7, 4,7)
		Pos o Neg	Pos HPV HR	4,7 (7/148) (2,6, 6,1)	3,4 (5/148) (1,6, 4,3)
	Negativo	Neg HPV 16/18/45*	Neg HPV HR	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)
Prevalenza				2,4% (9/378)	1,6% (6/378)
\geq 40 anni	Positivo	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e/o HPV 18/45	14,3 (4/28) (4,8, 26,4)	14,3 (4/28) (5,0, 21,9)
		Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Solo Pos HPV 16	26,7 (4/15) (6,4, 47,9)	26,7 (4/15) (6,5, 43,1)
		Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Solo Pos HPV 18/45	0 (0/12) (0,0, 21,5)	0 (0/12) (0,0, 18,6)
		Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)	0,0 (0/1) (0,0, 93,1)
		Neg HPV 16/18/45	Pos altri HPV HR	3,6 (3/83) (1,0, 7,8)	1,2 (1/83) (0,0, 4,1)
		Pos o Neg	Pos HPV HR	6,3 (7/111) (3,3, 8,9)	4,5 (5/111) (2,3, 5,4)
	Negativo	Neg HPV 16/18/45*	Neg HPV HR	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)	0 (0/319) (0,0, 0,8)
Prevalenza				2,6% (11/430)	1,2% (5/430)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo, N/P = non pertinente

*Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Il rischio relativo di malattia per i risultati positivi all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay rispetto ai risultati negativi è riportato in Tabella 11 (stime adattate per il bias di verifica) e nella Tabella 12 (stime non adattate). Nelle donne in cui è stata riscontrata la presenza dell'HPV di tipo 16, 18 e/o 45, la probabilità di avere una diagnosi \geq CIN2 è stata 12,9 volte maggiore e la probabilità di avere una diagnosi \geq CIN3 è stata 53,3 volte maggiore rispetto alle donne in cui non è stato riscontrato alcun tipo di HPV ad alto rischio. Nelle donne in cui è stata riscontrata la presenza di HPV di tipo 16, 18 e/o 45, la probabilità di avere una diagnosi \geq CIN2 è stata 3,0 volte maggiore e la probabilità di avere una diagnosi \geq CIN3 è stata 4,8 volte maggiore rispetto alle donne in cui sono stati riscontrati uno o più degli altri 11 tipi di HPV ad alto rischio.

Tabella 11: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rischio relativo di \geq CIN2 e \geq CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e dell'Aptima HPV Assay (stime adattate per il bias di verifica) iniziali

Interpretazione del test Aptima Assay*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Rischio relativo (CI al 95%)	Rischio relativo (CI al 95%)
Pos HPV 16 e/o 18/45 rispetto a Neg all'HPV HR	12,9 (3,1, 54,6)	53,3 (1,5, >999)
Pos HPV 16 e/o 18/45 rispetto a Pos altri HPV HR	3,0 (1,1, 8,8)	4,8 (1,2, 19,2)
Pos altri HPV HR rispetto a Neg HPV HR	4,3 (1,2, 15,1)	11,0 (0,4, 289,2)
Pos HPV HR rispetto a Neg HPV HR	6,1 (1,8, 21,0)	20,2 (0,7, 567,7)
Prevalenza	1,1%	0,8%

CI = intervallo di confidenza, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo

*Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Tabella 12: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rischio relativo di \geq CIN2 e \geq CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e dell'Aptima HPV Assay (stime non adattate) iniziali

Interpretazione del test Aptima Assay*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Rischio relativo (CI al 95%)	Rischio relativo (CI al 95%)
Pos HPV 16 e/o 18/45 rispetto a Neg all'HPV HR	9,9 (3,4, 28,4)	50,7 (6,2, 414,4)
Pos HPV 16 e/o 18/45 rispetto a Pos altri HPV HR	3,0 (1,1, 8,2)	4,5 (1,3, 15,4)
Pos altri HPV HR rispetto a Neg HPV HR	3,3 (1,1, 9,7)	11,3 (1,3, 100,7)
Pos HPV HR rispetto a Neg HPV HR	4,9 (1,9, 12,7)	21,2 (2,7, 164,7)
Prevalenza	2,5% (20/808)	1,4% (11/808)

CI = intervallo di confidenza, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo

*Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per lo scopo dell'analisi.

I rapporti di verosimiglianza (\geq CIN2 e \geq CIN3) deducibili dal risultato dell'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sono riportati in Tabella 13 (stime adattate per il bias di verifica) e nella Tabella 14 (stime non adattate). L'HPV di tipo 16, 18 e/o 45 è stato riscontrato con una probabilità 11,2 volte superiore in una donna con \geq CIN2 e 24,1 volte superiore in una donna con \geq CIN3 iniziale.

Tabella 13: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rapporti di verosimiglianza per \geq CIN2 e \geq CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e dell'Aptima HPV Assay (stime adattate per il bias di verifica) iniziali

Interpretazione dei risultati dell'Aptima Assay*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Rapporto di verosimiglianza (CI al 95%)	Rapporto di verosimiglianza (CI al 95%)
Positivo all'HPV 16 e/o 18/45	11,2 (3,3, 38,4)	24,1 (2,6, 225,9)
Positivo agli altri HPV HR	3,5 (1,3, 9,4)	4,7 (0,7, 29,8)
Negativo all'HPV HR	0,8 (0,6, 1,1)	0,4 (0,1, 2,2)

CI = intervallo di confidenza, HR = alto rischio

*Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Tabella 14: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rapporti di verosimiglianza per \geq CIN2 e \geq CIN3 in base ai risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e dell'Aptima HPV Assay (stime non adattate) iniziali

Interpretazione dei risultati dell'Aptima Assay*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Rapporto di verosimiglianza (CI al 95%)	Rapporto di verosimiglianza (CI al 95%)
Positivo all'HPV 16 e/o 18/45	4,8 (2,1, 8,5)	7,4 (3,3, 12,0)
Positivo agli altri HPV HR	1,5 (0,7, 2,5)	1,5 (0,5, 2,9)
Negativo all'HPV HR	0,4 (0,2, 0,8)	0,1 (0,0, 0,6)

CI = intervallo di confidenza, HR = alto rischio

*Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: prestazioni cliniche di Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay dopo 3 anni di follow-up

Sono state 10.822 le donne idonee alla fase di follow-up, di età pari o superiore ai 30 anni, con iniziali risultati citologici NILM, risultati positivi all'Aptima HPV assay e risultati validi all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay o risultati negativi all'Aptima HPV assay su Panther System. Delle donne senza \geq CIN2, il 67,0% (7.235 su 10.802) si è sottoposto alla visita di controllo con Pap-test dell'anno 1, il 60,3% (6.505 su 10.793) dell'anno 2, e il 58,7% (6.330/10.786) dell'anno 3. Complessivamente, il 58,8% (6.366 su 10.822) delle donne ha completato lo studio (\geq CIN2 iniziale o durante il follow-up), e/ o si è sottoposto alle visite richieste.

Dei 10.822 soggetti, 490 (il 4,5%) donne avevano risultati iniziali positivi all'Aptima HPV assay e risultati validi all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Di queste 490 donne, 247 (il 50,4%) presentavano uno stato della malattia a 3 anni positivo o negativo, sulla base dei risultati di esami di citologia o colposcopia/biopsia. Venticinque (25) donne presentavano \geq CIN2, tra cui 18 con \geq CIN3; 222 donne presentavano istologia normale/CIN1.

Delle 247 donne valutabili, con stato di malattia a 3 anni e risultati positivi all'Aptima HPV assay, 47 (il 19,0%) presentavano risultati positivi all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, indicanti la presenza di HPV 16 e/o HPV 18/45 superiore al cutoff clinico; 200 (l'81,0%) presentava risultati negativi, indicanti la presenza di uno o più degli altri 11 tipi di HPV ad alto rischio superiore al cutoff clinico.

Le restanti 10.332 donne hanno presentato risultati iniziali negativi all'Aptima HPV assay durante la sperimentazione CLEAR. Di queste, il 57,6% (5.946 su 10.322) presentavano uno stato di malattia di 3 anni. Per lo scopo dell'analisi, le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. I risultati iniziali dell'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay e lo stato di malattia di 3 anni determinato dal comitato di revisione dei risultati istologici (comprese le valutazioni iniziali e di follow-up) sono presentati in Tabella 15.

Tabella 15: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: classificazione delle donne idonee alla fase di follow-up in base ai risultati iniziali dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, dell'Aptima HPV Assay e dello Stato di malattia determinato nelle fasi iniziale e di follow-up

Risultato Aptima HPV Assay	Risultato dell'AHPV-GT Assay	Interpretazione	Stato di malattia di 3 anni (comprese valutazioni iniziale e di follow-up)							Totale
			Perse al follow-up	Indeterminato*	Normale	CIN1	CIN2	CIN3	Cancro	
Positivo	Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Pos HPV 16	25	2	16	0	1	5	1	50
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 18/45	22	3	18	2	2	0	2	49
	Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	1	0	0	0	0	0	0	1
	Neg HPV 16, Neg HPV 18/45	Pos altri HPV HR	168	22	178	8	4	10	0	390
Totale			216	27	212	10	7	15	3	490
Negativo	Neg HPV 16/18/45**	Neg HPV HR	4.150	236	5.879	46	16	5	0	10.332
Totale			4.366	263	6.091	56	23	20	3 [^]	10.822

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo

*Donne che hanno ricevuto risultati citologici anomali durante il follow-up e che non hanno ricevuto un successivo risultato consensuale del comitato di revisione dei risultati istologici, oppure donne con risultati citologici inadeguati all'ultima visita.

**Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per lo scopo dell'analisi.

[^]Tre donne hanno avuto una diagnosi di adenocarcinoma in situ (AIS).

I rischi cumulativi a 3 anni della malattia (\geq CIN2 e \geq CIN3) si basano sul metodo di Kaplan-Meier (analisi di sopravvivenza) e comprendono lo stato di malattia rilevato in fase iniziale o durante il follow-up. Le donne che avevano indicazioni della patologia (ASC-US o risultati citologici più gravi) ma nessun risultato consensuale del comitato di revisione dei risultati istologici sono state incluse nell'analisi usando un metodo di imputazione multipla per prevedere il numero di donne con la malattia che sarebbero state identificate se le stesse fossero state sottoposte a colposcopia.

I rischi cumulativi assoluti di malattia a 3 anni (\geq CIN2 e \geq CIN3) in base ai risultati dell'Aptima HPV assay e dell'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sono riportati in Tabella 16. Il rischio cumulativo relativo di malattia a 3 anni per i risultati positivi all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay rispetto ai risultati negativi è riportato in Tabella 17.

Tabella 16: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rischio cumulativo assoluto* a 3 anni di \geq CIN2 e \geq CIN3 per i risultati iniziali dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e dell'Aptima HPV Assay

Risultato dell'Aptima HPV Assay	Risultato dell'AHPV-GT Assay	Interpretazione	\geq CIN2	\geq CIN3
			Rischio assoluto (CI al 95%)	Rischio assoluto (CI al 95%)
Positivo	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e/o HPV 18/45	16,5 (9,4, 28,1)	11,9 (6,0, 22,8)
	Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Solo Pos HPV 16	21,4 (10,8, 39,7)	18,6 (8,7, 37,3)
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Solo Pos HPV 18/45	12,2 (4,7, 29,6)	5,4 (1,3, 21,1)
	Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	N/P	N/P
	Neg HPV 16/18/45	Pos altri HPV HR	5,7 (3,4, 9,5)	3,8 (2,0, 7,2)
	Pos o Neg	Pos HPV HR	7,9 (5,4, 11,3)	5,4 (3,5, 8,5)
Negativo	Neg HPV 16/18/45**	Neg HPV HR	0,3 (0,2, 0,5)	0,1 (0,0, 0,2)
Prevalenza			0,7%	0,3%

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = alto rischio, N/P = non pertinente, Pos = positivo, Neg = negativo

*I rischi cumulativi a 3 anni adattati per altri possibili bias erano simili ai rischi in questa tabella. A causa di differenze previste nei rischi all'anno 1 e all'anno 2 per i due gruppi di donne nello studio di follow-up (quelle con colposcopia iniziale e quelle senza), è stato riportato solo il rischio cumulativo a 3 anni per i gruppi combinati.

**Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Tabella 17: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rischio cumulativo relativo* a 3 anni di \geq CIN2 e \geq CIN3 per i risultati iniziali dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e dell'Aptima HPV Assay

Interpretazione del test Aptima Assay**	\geq CIN2	\geq CIN3
	Rischio relativo (CI al 95%)	Rischio relativo (CI al 95%)
Pos HPV 16 e/o 18/45 rispetto a Neg all'HPV HR	51,2 (25,9, 101,0)	129,6 (42,7, 393,5)
Pos HPV 16 e/o 18/45 rispetto a Pos altri HPV HR	2,9 (1,4, 6,2)	3,1 (1,2, 7,9)
Pos altri HPV HR rispetto a Neg HPV HR	17,6 (8,9, 34,9)	42,0 (14,2, 124,0)
Pos HPV HR rispetto a Neg HPV HR	24,3 (13,7, 43,2)	59,5 (22,0, 161,0)
Prevalenza	0,7%	0,3%

CI = intervallo di confidenza, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo

*I rischi cumulativi a 3 anni adattati per altri possibili bias erano simili ai rischi in questa tabella. A causa di differenze previste nei rischi all'anno 1 e all'anno 2 per i due gruppi di donne nello studio di follow-up (quelle con colposcopia iniziale e quelle senza), è stato riportato solo il rischio cumulativo a 3 anni per i gruppi combinati.

**Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per lo scopo dell'analisi.

La prevalenza cumulativa a 3 anni di \geq CIN2 e \geq CIN3 nelle donne con risultati citologici NILM iniziali è stata rispettivamente dello 0,7% e dello 0,3%. Il rischio relativo di rilevamento di \geq CIN2 per le donne con risultati positivi per HPV 16 e/o 18/45 rispetto a risultati positivi ad altri tipi di HPV ad alto rischio è stato di 2,9 (CI del 95%: 1,4, 6,2), a indicare che \geq CIN2 è stato rilevato in donne con risultati positivi di HPV 16 e/o 18/45 2,9 volte più frequentemente che nelle donne con risultati positivi di altri tipi di HPV ad alto rischio. Il rischio relativo di \geq CIN3 è stato di 3,1 (CI del 95%: (1,2, 7,9)). Il rischio relativo di rilevamento di \geq CIN2 per le donne con risultati positivi per altri tipi di HPV ad alto rischio rispetto a risultati negativi per altri tipi di HPV ad alto rischio è stato di 17,6 (CI del 95%: 8,9, 34,9), a indicare che \geq CIN2 è stato rilevato in donne con risultati positivi per altri tipi di HPV ad alto rischio 17,6 volte più frequentemente che nelle donne con risultati negativi per HPV ad alto rischio. Il rischio relativo di \geq CIN3 è stato di 42,0 (CI del 95%: (14,2, 124,0)).

Prestazioni cliniche di Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con campioni per citologia in fase liquida SurePath

I campioni per citologia in fase liquida SurePath sono stati raccolti da donne canadesi a cui era stato richiesto un follow-up a causa di uno o più Pap test anomali, di infezione da HPV o per altri motivi. Un'aliquota (0,5 ml) di ciascun campione è stata trasferita all'interno di una provetta di trasporto del campione Aptima per poi essere trattata con la soluzione di trasporto Aptima. Un singolo replicato di ciascun campione è stato analizzato con l'Aptima HPV assay (n = 500). I campioni positivi sono stati quindi analizzati con l'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay e con l'Aptima HPV assay; i risultati sono riportati in Tabella 18. Risultati simili sono riportati per il test per l'HPV basato sulla PCR disponibile in commercio, che distingue l'HPV 16 e l'HPV 18, ma non l'HPV 45, separatamente dagli altri genotipi ad alto rischio. Il rischio relativo di malattia per i risultati positivi del genotipo rispetto ai risultati negativi è riportato in Tabella 19 per l'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay e per il test per l'HPV basato sulla PCR.

Tabella 18: Rischio assoluto di \geq CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e per un test per l'HPV basato sulla PCR disponibile in commercio

Risultato HPV HR	Risultato genotipo	Interpretazione	Rischio assoluto Aptima \geq CIN3 (CI al 95%)	Rischio assoluto \geq CIN3 HPV PCR (CI al 95%)
Positivo	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45*	Pos HPV 16 e/o HPV 18/45*	13,9 (10,8-17,0)	13,9 (11,4-16,4)
	Pos HPV 16 e Neg HPV 18/45*	Solo Pos HPV 16	16,8 (12,4-21,3)	16,2 (12,8-19,5)
	Neg HPV 16 e/o Pos HPV 18/45*	Solo Pos HPV 18/45*	6,1 (2,0-12,9)	6,6 (2,1-13,9)
	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45*	Pos HPV 16 e HPV 18/45*	25,0 (2,9-59,8)	12,5 (1,3-34,5)
	Neg HPV 16 e/o Neg HPV 18/45*	Pos altri HPV HR	2,1 (1,4-2,8)	2,0 (1,4-2,7)
	Pos o Neg	Pos HPV HR	11,5 (10,3-12,4)	10,7 (9,8-11,4)
Negativo**	Neg HPV 16 e/o Neg HPV 18/45*	Neg HPV HR	1,1 (0,5-2,0)	0,6 (0,2-1,4)
Prevalenza (%)			4,2%	4,6%

HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo

*Il test per l'HPV basato sulla PCR distingue solo l'HPV 16 e l'HPV 18 dagli altri 12 genotipi ad alto rischio, incluso l'HPV 45.

**Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Tabella 19: Rischio relativo di \geq CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e per un test per l'HPV basato sulla PCR disponibile in commercio

Risultati dell'Aptima assay		Risultati del test per l'HPV basato sulla PCR	
Interpretazione del test	Rischio relativo \geq CIN3 (CI al 95%)	Interpretazione del test	Rischio relativo \geq CIN3 (CI al 95%)
Positivo all'HPV 16 e/o 18/45 rispetto a negativo all'HPV HR	12,6 (5,9-27,0)	Positivo all'HPV 16 e/o 18/45 rispetto a negativo all'HPV HR	23,3 (8,4-64,3)
Positivo all'HPV 16 e/o 18/45 rispetto a positivo agli altri HPV HR	3,0 (1,6-5,5)	Positivo all'HPV 16 e/o 18/45 rispetto a positivo agli altri HPV HR	3,1 (1,8-5,3)
Positivo agli altri HPV HR rispetto a negativo all'HPV HR	4,2 (1,8-10,1)	Positivo agli altri HPV HR rispetto a negativo all'HPV HR	7,6 (2,6-22,4)
Positivo all'HPV HR rispetto a negativo all'HPV HR	8,3 (4,0-17,3)	Positivo all'HPV HR rispetto a negativo all'HPV HR	14,4 (5,3-39,5)
Prevalenza	4,2%	Prevalenza	4,6%

Prestazioni cliniche dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con campioni prelevati con il kit di raccolta e trasporto dei campioni cervicali

I campioni CSCT sono stati prelevati da donne sottoposte a screening di routine o a visite di controllo e sono stati analizzati con l'Aptima HPV assay. I campioni CSCT residui (n = 378) con un risultato positivo all'Aptima HPV assay sono stati analizzati con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sul sistema Tigris DTS. Il genotipo dell'HPV di ciascun campione è stato determinato utilizzando un test di genotipizzazione del DNA. I campioni con risultati discordanti (tra il test di genotipizzazione del DNA e l'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay) sono stati analizzati con un test convalidato di sequenziamento mediante PCR con trascrittasi inversa per risolvere lo stato HPV 16, HPV 18 e HPV 45. È stata determinata la concordanza clinica (positiva e negativa) per l'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per il rilevamento dell'HPV 16, 18 e 45 ad alto rischio. I risultati sono riportati in Tabella 20.

Tabella 20: Concordanza clinica dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sul sistema Tigris DTS per il rilevamento dell'HPV 16, 18 e 45 ad alto rischio in campioni CSCT

		Metodo di riferimento				Totale
		Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Neg HPV 16, Neg HPV 18/45	
Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay	Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	125	0	1	0	126
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	0	43	0	1	44
	Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	0	0	8	1	9
	Neg HPV 16, Neg HPV 18/45	1	1	0	197	199
	Totale	126	44	9	199	378

Pos = positivo, Neg = negativo

Concordanza positiva: 98,3% (176 su 179) (CI al 95%: 95,2, 99,4)

Concordanza negativa: 99,0% (197 su 199) (CI al 95%: 96,4, 99,7)

Prestazioni cliniche dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con campioni prelevati con il kit di raccolta e trasporto dei campioni cervicali

Le prestazioni dell'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sono state valutate utilizzando campioni CSCT prelevati da donne sottoposte a visita di controllo per un risultato anomalo del Pap test. I campioni sono stati analizzati inizialmente con l'Aptima HPV assay (n = 651). I campioni con un risultato positivo per l'Aptima HPV assay (n = 414) sono stati analizzati successivamente con l'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sia sul sistema Tigris DTS che sul Panther System.

La concordanza clinica dell'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per il rilevamento dell'HPV 16, 18 e 45 ad alto rischio è stata determinata per il Panther System utilizzando come metodo di riferimento il risultato del sistema Tigris DTS. Sono stati calcolati i valori percentuali di concordanza positivi e negativi e i relativi intervalli di confidenza del punteggio al 95%. I risultati sono riportati in Tabella 21.

Tabella 21: Concordanza clinica dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sul Panther System per il rilevamento dell'HPV 16, 18 e 45 ad alto rischio in campioni CSCT

		Risultato relativo al sistema Tigris DTS				Totale
		Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Neg HPV 16, Neg HPV 18/45	
Risultato relativo al Panther System	Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	194	0	1	3	198
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	0	34	0	0	34
	Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	0	0	7	0	7
	Neg HPV 16, Neg HPV 18/45	1	1	0	173	175
	Totale	195	35	8	176	414

Pos = positivo, Neg = negativo

Concordanza positiva: 98,7% (235 su 238) (CI al 95%: 96,4, 99,6)

Concordanza negativa: 98,3% (173 su 176) (CI al 95%: 95,1, 99,4)

Confronto dei risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sul Panther System per i campioni clinici pre e post-citologia ThinPrep

È stato condotto uno studio per valutare la concordanza dei risultati di Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sul Panther System con campioni cervicali analizzati prima (pre-citologia) o dopo (post-citologia) il trattamento sul processore ThinPrep 5000.

I campioni provenivano da donne dalle quali erano stati prelevati campioni cervicali poi immersi in fiale per Pap test ThinPrep nell'ambito di attività di screening standard del cervicocarcinoma.

Per ogni soggetto, due aliquote da 1 ml di campione cervicale conservato nella fiala per Pap test ThinPrep sono state manualmente trasferite in una provetta di trasferimento del campione Aptima (campione A e campione B pre-citologia). Dopo il trattamento con ThinPrep 5000, 1 ml del restante campione ThinPrep è stato trasferito in una provetta di trasferimento del campione Aptima (campione C post-citologia).

Con Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sono stati valutati un totale di 214 campioni con risultati positivi all'Aptima HPV assay. La frequenza di HPV 16 e/o HPV 18/45 rilevato dal test è indicata in Tabella 22 per la popolazione totale, in Tabella 23 per la popolazione NILM (≥ 30 anni) e in Tabella 24 per la popolazione ASC-US (≥ 21 anni). Nell'analisi sono stati inclusi solo i campioni con risultati positivi all'Aptima HPV assay per il campione A o il campione B e positivi per il campione C.

Tabella 22: Popolazione totale¹: Frequenza di genotipi HPV 16 e/o 18/45 rilevati da Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay in campioni pre e post-citologia

		Campioni A e B pre-citologia			
		Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos altri HPV HR ³ , Neg HPV 16/18/45	Indeterminato ⁴
Campione C post-citologia ²	Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	18	0	0	2
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	0	9	2	4
	Pos HPV 16 e Pos HPV 18/45	0	0	0	1
	Pos altri HPV HR ³ , Neg HPV 16/18/45	0	0	175	3

HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo.

¹ La popolazione totale include >ASC-US, NILM, ASC-US.

² Tutti i campioni hanno un set completo di risultati relativi all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay.

³ Genotipi HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e/o 68.

⁴ Include casi in cui almeno un campione pre-citologia (A o B) è negativo all'HPV 16 e/o HPV 18/45.

Tabella 23: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: Frequenza di genotipi HPV 16 e/o 18/45 rilevati da Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay in campioni pre e post-citologia

		Campioni A e B pre-citologia			
		Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos altri HPV HR ² , Neg HPV 16/18/45	Indeterminato ³
Campione C post-citologia ¹	Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	5	0	0	2
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	0	1	0	1
	Pos altri HPV HR ² , Neg HPV 16/18/45	0	0	71	2

HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo.

¹ Tutti i campioni hanno un set completo di risultati relativi all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay.

² Genotipi HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e/o 68.

³ Include casi in cui almeno un campione pre-citologia (A o B) è negativo all'HPV 16 e/o HPV 18/45.

Tabella 24: Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: Frequenza di genotipi HPV 16 e/o 18/45 rilevati da Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay in campioni pre e post-citologia

		Campioni A e B pre-citologia			
		Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos altri HPV HR ² , Neg HPV 16/18/45	Indeterminato ³
Campione C post-citologia ¹	Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	3	0	0	0
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	0	3	1	1
	Pos altri HPV HR ² , Neg HPV 16/18/45	0	0	48	0

HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo.

¹ Tutti i campioni hanno un set completo di risultati relativi all'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay.

² Genotipi HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e/o 68.

³ Include casi in cui almeno un campione pre-citologia (A o B) è negativo all'HPV 16 e/o HPV 18/45.

Sensibilità analitica

Il limite di rilevamento (Limit of Detection, LoD) al cutoff clinico è una concentrazione che risulta positiva (al di sopra del cutoff clinico) nel 95% dei casi. Il LoD dell'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay è stato stimato analizzando i singoli campioni (o pool di campioni) clinici negativi per citologia in fase liquida ThinPrep addizionati con trascritti *in vitro* di HPV o cellule in coltura infette da HPV (SiHa, HeLa, and MS751; ATCC, Manassas, Virginia) a varie concentrazioni. Per i pannelli di trascritto *in vitro*, 60 replicati di ciascun livello di copie sono stati analizzati con ciascuno dei due lotti di reagenti, per un totale di 120 replicati. Per i pannelli di linea cellulare, 30 replicati di ciascun livello di copie sono stati analizzati con ciascuno dei due lotti di reagenti, per un totale di 60 replicati. L'analisi è stata eseguita nell'arco di otto giorni, con un minimo di tre sessioni analitiche al giorno e cinque replicati per ciascun genotipo analizzati in ogni sessione analitica. Il limite di rilevamento del 95% (Tabella 25) è stato calcolato dall'analisi della regressione probit dei risultati di positività per ciascun pannello di diluizione.

Tabella 25: Limite di rilevamento al cutoff clinico dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Target	Limite di rilevamento* (CI al 95%)
HPV 16	23,7 (19,1, 30,9)
HPV 18	26,1 (21,2, 33,9)
HPV 45	34,5 (28,5, 43,6)
SiHa	0,4 (0,3, 0,7)
HeLa	0,7 (0,4, 1,4)
MS751	0,2 (0,1, 0,3)

*copie per reazione per trascritti *in vitro* e cellule per reazione per linee cellulari

Precisione del test

La precisione dell'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay è stata valutata in due studi utilizzando lo stesso pannello da 24 elementi. Lo studio 1 è stato condotto in 3 centri di analisi esterni per determinare la riproducibilità del test. Lo studio 2 è stato condotto internamente per determinare la precisione all'interno del laboratorio. Il pannello comprendeva 17 elementi positivi all'HPV 16 e/o 18/45 con concentrazioni pari o superiori al limite di rilevamento del test (positività attesa: $\geq 95\%$), 3 elementi positivi all'HPV 16 e/o 18/45 con concentrazioni inferiori al limite di rilevamento del test (positività attesa: da $> 0\%$ a $< 25\%$) e 4 elementi negativi all'HPV. Gli elementi del pannello positivi all'HPV 16 e/o 18/45 sono stati preparati aggiungendo trascritto *in vitro* di cellule in coltura infette da HPV (SiHa, HeLa e MS751; ATCC, Manassas, Virginia) a pool di campioni residui per citologia in fase liquida ThinPrep, oppure diluendo i campioni clinici di HPV 16, 18 e/o 45 in pool di campioni residui per citologia in fase liquida ThinPrep diluiti con STM. Gli elementi del pannello negativi all'HPV sono stati preparati con pool di campioni per citologia in fase liquida ThinPrep o soluzione PreservCyt diluita con terreno di trasporto dei campioni (STM).

Nello studio 1, 2 operatori in ciascuno dei 3 centri di analisi (1 strumento per centro) hanno eseguito 2 liste di lavoro dell'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay al giorno nell'arco di 3 giorni. L'analisi è stata condotta utilizzando 2 lotti di reagenti. Ogni lista di lavoro conteneva 3 replicati per ciascuno degli elementi del pannello di riproducibilità. Per ciascun elemento del pannello sono state analizzate centootto (108) singole provette di campione (3 centri x 1 strumento x 2 operatori x 2 lotti x 3 giorni x 3 replicati). Nello studio 2, l'analisi è stata condotta internamente nell'arco di 13 giorni per un totale di 162 reazioni analizzate per ciascun elemento del pannello (1 centro x 3 strumenti x 3 operatori x 3 lotti x 2 liste di lavoro x 3 replicati).

Gli elementi del pannello sono descritti in Tabella 26a e in Tabella 26b, insieme a un riepilogo della concordanza con i risultati attesi rispettivamente per l'HPV 16 e l'HPV 18/45. Tabella 27 Presenta i valori S/CO dell'analita di HPV 16 e HPV 18/45 ai percentili di ordine 2,5, 50 e 97,5 della distribuzione dell'S/CO. La variabilità dell'S/CO dell'analita HPV 16 per gli elementi del pannello con un risultato positivo atteso per HPV 16 è riportata in Tabella 28 per lo Studio 1 e in Tabella 29 per lo Studio 2. La variabilità dell'S/CO dell'analita HPV 18/45 per gli elementi del pannello con un risultato positivo atteso per HPV 18/45 è riportata in Tabella 30 per lo Studio 1 e in Tabella 31 per lo Studio 2.

Tabella 26a: Studio di precisione 1 e 2 dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: descrizione del pannello e concordanza percentuale con i risultati attesi per l'HPV 16

Descrizione pannello (copie o cellule/reazione)	HPV 16 Risultato atteso	Concordanza percentuale (CI al 95%)	
		Studio 1 (3 centri di analisi)	Studio 2 (1 centro di analisi)
IVT HPV 16 (240 copie) Positivo alto	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT HPV 18 (260 copie) Positivo alto	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT HPV 45 (350 copie) Positivo alto	Negativo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Campione clinico 1 HPV 16 Positivo alto	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 1 HPV 18/45 Positivo alto	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Cellule SiHa (4 cellule) - positivo alto e cellule HeLa (0,7 cellule) - positivo basso	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellule SiHa (0,4 cellule) - positivo basso e cellule HeLa (7 cellule) - positivo alto	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
Cellule SiHa (0,4 cellule) Positivo basso	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)

Tabella 26a: Studio di precisione 1 e 2 dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: descrizione del pannello e concordanza percentuale con i risultati attesi per l'HPV 16 (continua)

Descrizione pannello (copie o cellule/reazione)	HPV 16 Risultato atteso	Concordanza percentuale (CI al 95%)	
		Studio 1 (3 centri di analisi)	Studio 2 (1 centro di analisi)
Cellule HeLa (0,7 cellule) Positivo basso	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellule MS751 (0,2 cellule) Positivo basso	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (158/159) (96,5, 99,9)
IVT HPV 16 (24 copie) Positivo basso	Positivo	100 (107/107) (96,5, 100)	96,9 (157/162) (93,2, 98,7)
IVT HPV 18 (26 copie) Positivo basso	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT HPV 45 (35 copie) Positivo basso	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 2 HPV 16 Positivo basso	Positivo	98,1 (105/107) (93,4, 99,5)	98,8 (160/162) (95,7, 99,7)
Campione clinico 3 HPV 16 Positivo basso	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
Campione clinico 2 HPV 18/45 Positivo basso	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 3 HPV 18/45 Positivo basso	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellule SiHa (0,001 cellule) Negativo alto	Negativo	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (158/161) (94,8, 99,4)
Cellule HeLa (0,001 cellule) Negativo alto	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellule MS751 (0,006 cellule) Negativo alto	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 1 negativo all'HPV	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 2 negativo all'HPV	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
PreservCyt 1 negativo all'HPV	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
PreservCyt 2 negativo all'HPV	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

CI = intervallo di confidenza per il punteggio

Nota: la concordanza percentuale può essere stata influenzata dalle variazioni nell'aggiunta, nella diluizione e/o nella suddivisione in aliquote.

Tabella 26b: Studio di precisione 1 e 2 dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: descrizione del pannello e concordanza percentuale con i risultati attesi per l'HPV 18/45

Descrizione pannello (copie o cellule/reazione)	Concordanza percentuale (CI al 95%)		
	HPV 18/45 Risultati attesi	Studio 1 (3 centri di analisi)	Studio 2 (1 centro di analisi)
IVT HPV 16 (240 copie) Positivo alto	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT HPV 18 (260 copie) Positivo alto	Positivo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT HPV 45 (350 copie) Positivo alto	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 1 HPV 16 Positivo alto	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 1 HPV 18/45 Positivo alto	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)

Tabella 26b: Studio di precisione 1 e 2 dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: descrizione del pannello e concordanza percentuale con i risultati attesi per l'HPV 18/45 (continua)

Cellule SiHa (4 cellule) - positivo alto e cellule HeLa (0,7 cellule) - positivo basso	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellule SiHa (0,4 cellule) - positivo basso e cellule HeLa (7 cellule) - positivo alto	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellule SiHa (0,4 cellule) Positivo basso	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Descrizione pannello (copie o cellule/reazione)	Concordanza percentuale (CI al 95%)		
	HPV 18/45 Risultati attesi	Studio 1 (3 centri di analisi)	Studio 2 (1 centro di analisi)
Cellule HeLa (0,7 cellule) Positivo basso	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellule MS751 (0,2 cellule) Positivo basso	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	88,7 (141/159) (84,5, 93,5)
IVT HPV 16 (24 copie) Positivo basso	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT HPV 18 (26 copie) Positivo basso	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT HPV 45 (35 copie) Positivo basso	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
Campione clinico 2 HPV 16 Positivo basso	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 3 HPV 16 Positivo basso	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 2 HPV 18/45 Positivo basso	Positivo	100 (107/107) (96,5, 100)	95,7 (155/162) (91,7, 98,0)
Campione clinico 3 HPV 18/45 Positivo basso	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
Cellule SiHa (0,001 cellule) Negativo alto	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Cellule HeLa (0,001 cellule) Negativo alto	Negativo	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
Cellule MS751 (0,006 cellule) Negativo alto	Negativo	75,0 (81/108) (66,1, 82,2)	88,3 (143/162) (84,2, 93,2)
Campione clinico 1 negativo all'HPV	Negativo	99,1 (106/107) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 2 negativo all'HPV	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
PreservCyt 1 negativo all'HPV	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
PreservCyt 2 negativo all'HPV	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

CI = intervallo di confidenza per il punteggio

Nota: la concordanza percentuale può essere stata influenzata dalle variazioni nell'aggiunta, nella diluizione e/o nella suddivisione in aliquote.

Tabella 27: Studio di precisione 1 e 2 dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: distribuzione percentile dei valori dell'S/CO dell'analita HPV 16 e HPV 18/45

Descrizione pannello (copie o cellule/reazione)	Percentile S/CO analita HPV 16						Percentile S/CO analita HPV 18/45					
	Studio 1 (3 centri di analisi)			Studio 2 (1 centro di analisi)			Studio 1 (3 centri di analisi)			Studio 2 (1 centro di analisi)		
	2,5°	50°	97,5°	2,5°	50°	97,5°	2,5°	50°	97,5°	2,5°	50°	97,5°
IVT HPV 16 (240 copie) Positivo alto	2,86	3,26	3,53	2,92	3,30	3,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IVT HPV 18 (260 copie) Positivo alto	0,00	0,30	0,59	0,13	0,34	0,51	5,22	5,66	8,86	5,24	5,53	6,17
IVT HPV 45 (350 copie) Positivo alto	0,00	0,22	0,43	0,08	0,24	0,41	4,37	4,92	8,78	4,40	5,05	5,99
Campione clinico 1 HPV 16 Positivo alto	2,49	3,12	3,34	2,67	3,10	3,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Campione clinico 1 HPV 18/45 Positivo alto	0,00	0,30	0,56	0,15	0,33	0,50	4,95	6,67	8,95	4,49	6,22	8,27
Cellule SiHa (4 cellule) - positivo alto e cellule HeLa (0,7 cellule) - positivo basso	2,48	3,26	3,60	2,83	3,29	3,62	3,76	4,64	6,16	4,12	4,58	5,28
Cellule SiHa (0,4 cellule) - positivo basso e cellule HeLa (7 cellule) - positivo alto	1,14	2,77	3,40	1,25	2,95	3,47	4,01	4,87	6,73	4,36	4,70	5,34
Cellule SiHa (0,4 cellule) Positivo basso	1,60	2,81	3,24	1,13	2,70	3,26	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00
Cellule HeLa (0,7 cellule) Positivo basso	0,00	0,31	0,56	0,17	0,33	0,52	3,63	5,11	7,17	4,15	5,15	5,66
Cellule MS751 (0,2 cellule) Positivo basso	0,00	0,26	0,41	0,12	0,28	0,38	1,33	4,23	6,28	0,34	3,34	5,38
IVT HPV 16 (24 copie) Positivo basso	1,56	3,16	3,43	0,99	3,16	3,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IVT HPV 18 (26 copie) Positivo basso	0,00	0,30	0,52	0,14	0,30	0,51	4,76	5,48	8,01	4,47	5,42	5,86
IVT HPV 45 (35 copie) Positivo basso	0,00	0,24	0,43	0,12	0,24	0,39	1,57	4,81	8,91	2,04	4,80	5,85
Campione clinico 2 HPV 16 Positivo basso	1,37	2,95	3,51	1,25	2,90	3,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Campione clinico 3 HPV 16 Positivo basso	1,80	2,96	3,58	1,15	2,84	3,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Campione clinico 2 HPV 18/45 Positivo basso	0,03	0,28	0,46	0,16	0,33	0,46	2,50	4,20	7,04	0,69	3,60	4,85
Campione clinico 3 HPV 18/45 Positivo basso	0,00	0,32	0,54	0,14	0,32	0,48	2,37	4,83	8,07	1,68	4,08	7,21
Cellule SiHa (0,001 cellule) Negativo alto	0,28	0,32	1,12	0,28	0,31	0,43	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,02
Cellule HeLa (0,001 cellule) Negativo alto	0,28	0,33	0,43	0,29	0,32	0,36	0,00	0,00	1,28	0,00	0,00	0,87
Cellule MS751 (0,006 cellule) Negativo alto	0,17	0,32	0,35	0,27	0,32	0,36	0,00	0,01	4,32	0,00	0,01	2,03
Campione clinico 1 negativo all'HPV	0,24	0,32	0,35	0,28	0,31	0,35	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,02
Campione clinico 2 negativo all'HPV	0,27	0,32	0,35	0,29	0,32	0,34	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,03
PreservCyt 1 negativo all'HPV	0,27	0,33	0,37	0,30	0,33	0,36	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,02
PreservCyt 2 negativo all'HPV	0,29	0,33	0,37	0,30	0,33	0,35	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,01

Tabella 28: Studio di precisione 1 dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: variabilità del segnale analita HPV 16 per gli elementi del pannello con risultato positivo atteso per HPV 16

Descrizione pannello (copie o cellule/reazione)	N	S/CO medio	Tra centri		Tra operatori diversi		Tra lotti diversi		Tra liste di lavoro		All'interno delle liste di lavoro		Totale	
			DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
IVT HPV 16 (240 copie) Positivo alto	108	3,23	0,06	2,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,09	2,9	0,14	4,2	0,18	5,5
Campione clinico 1 HPV 16, positivo alto	108	3,07	0,07	2,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,11	3,6	0,16	5,2	0,21	6,8
Cellule SiHa (4 cellule) - positivo alto e cellule HeLa (0,7 cellule) - positivo basso	108	3,22	0,10	3,2	0,02	0,6	0,00	0,0	0,08	2,4	0,21	6,5	0,25	7,6
Cellule SiHa (0,4 cellule) - positivo basso e cellule HeLa (7 cellule) - positivo alto	108	2,63	0,05	1,8	0,00	0,0	0,00	0,0	< 0,01	0,0	0,58	22,3	0,59	22,3
Cellule SiHa (0,4 cellule) Positivo basso	108	2,65	0,00	0,0	0,00	0,0	0,12	4,6	0,00	0,0	0,44	16,6	0,46	17,3
IVT HPV 16 (24 copie) Positivo basso	107*	3,01	0,06	2,1	0,05	1,5	0,05	1,6	0,00	0,0	0,44	14,6	0,45	14,9
Campione clinico 2 HPV 16 Positivo basso	107*	2,88	0,08	2,8	0,00	0,0	0,08	2,9	0,17	5,9	0,39	13,7	0,44	15,4
Campione clinico 3 HPV 16 Positivo basso	108	2,89	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,14	4,8	0,39	13,5	0,41	14,4

CV = coefficiente di variazione, DS = deviazione standard

*Due campioni hanno fornito risultati non validi per l'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay e sono stati esclusi dall'analisi.

Nota: la variabilità da alcuni fattori potrebbe essere numericamente negativa. Ciò può verificarsi se la variabilità dovuta a tali fattori è piuttosto ridotta. In tali casi, i valori DS e CV sono indicati come pari a zero.

Tabella 29: Studio di precisione 2 dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: variabilità del segnale analita HPV 16 per gli elementi del pannello con risultato positivo atteso per HPV 16

Descrizione pannello (copie o cellule/reazione)	N	S/CO medio	Tra strumenti diversi		Tra operatori diversi		Tra lotti diversi		Tra liste di lavoro		All'interno delle liste di lavoro		Totale	
			DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
IVT HPV 16 (240 copie) Positivo alto	162	3,28	0,05	1,5	0,02	0,5	0,12	3,8	0,17	5,3	0,13	3,8	0,25	7,7
Campione clinico 1 HPV 16 Positivo alto	162	3,08	0,04	1,2	0,00	0,0	0,08	2,6	0,07	2,3	0,19	6,2	0,22	7,2
Cellule SiHa (4 cellule) - positivo alto e cellule HeLa (0,7 cellule) - positivo basso	162	3,27	0,05	1,6	0,00	0,0	0,05	1,4	0,13	4,0	0,18	5,5	0,23	7,2
Cellule SiHa (0,4 cellule) - positivo basso e cellule HeLa (7 cellule) - positivo alto	162	2,78	0,08	2,8	0,04	1,3	0,28	10,2	0,20	7,1	0,53	18,9	0,64	22,8
Cellule SiHa (0,4 cellule) Positivo basso	162	2,54	0,16	6,2	0,05	2,0	0,29	11,4	0,25	9,9	0,47	18,6	0,63	24,8
IVT HPV 16 (24 copie) Positivo basso	162	3,04	0,03	1,0	0,05	1,5	0,20	6,5	0,34	11,3	0,36	11,8	0,54	17,7
Campione clinico 2 HPV 16 Positivo basso	162	2,77	0,08	2,9	0,00	0,0	0,23	8,3	0,21	7,5	0,37	13,3	0,49	17,7
Campione clinico 3 HPV 16 Positivo basso	162	2,67	0,03	1,1	0,04	1,6	0,22	8,1	0,25	9,2	0,49	18,2	0,59	22,0

CV = coefficiente di variazione, DS = deviazione standard

Nota: la variabilità da alcuni fattori potrebbe essere numericamente negativa. Ciò può verificarsi se la variabilità dovuta a tali fattori è piuttosto ridotta. In tali casi, i valori DS e CV sono indicati come pari a zero.

Tabella 30: Studio di precisione 1 dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: variabilità del segnale analita HPV 18/45 per gli elementi del pannello con risultato positivo atteso per HPV 18/45

Descrizione pannello (copie o cellule/reazione)	N	S/CO medio	Tra centri		Tra operatori diversi		Tra lotti diversi		Tra liste di lavoro		All'interno delle liste di lavoro		Totale	
			DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
IVT HPV 18 (260 copie) Positivo alto	107*	5,88	0,33	5,5	0,52	8,9	0,00	0,0	0,43	7,4	0,17	2,8	0,77	13,1
IVT HPV 45 (350 copie) Positivo alto	108	5,12	0,43	8,4	0,47	9,2	0,31	6,1	0,58	11,3	0,18	3,6	0,93	18,2
Campione clinico 1 HPV 18/ 45 Positivo alto	108	6,71	0,66	9,8	0,58	8,7	0,50	7,5	0,42	6,2	0,94	14,0	1,44	21,5
Cellule SiHa (4 cellule) - positivo alto e cellule HeLa (0,7 cellule) - positivo basso	108	4,69	0,22	4,7	0,10	2,1	0,08	1,7	0,10	2,2	0,54	11,4	0,60	12,8
Cellule SiHa (0,4 cellule) - positivo basso e cellule HeLa (7 cellule) - positivo alto	108	4,94	0,28	5,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,38	7,7	0,42	8,4	0,63	12,7
Cellule HeLa (0,7 cellule) Positivo basso	108	5,17	0,38	7,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,40	7,6	0,56	10,8	0,78	15,1
Cellule MS751 (0,2 cellule) Positivo basso	108	4,00	0,62	15,4	0,00	0,0	0,38	9,5	0,47	11,8	0,94	23,5	1,28	31,9
IVT HPV 18 (26 copie) Positivo basso	108	5,52	0,21	3,8	0,15	2,7	0,00	0,0	0,37	6,7	0,60	10,9	0,75	13,7
IVT HPV 45 (35 copie) Positivo basso	108	4,71	0,34	7,1	0,41	8,6	0,15	3,1	0,69	14,6	0,88	18,6	1,24	26,3
Campione clinico 2 HPV 18/ 45 Positivo basso	107*	4,29	0,17	4,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,38	8,9	1,05	24,6	1,13	26,5
Campione clinico 3 HPV 18/ 45 Positivo basso	108	5,12	0,38	7,5	0,00	0,0	0,38	7,4	0,00	0,0	1,37	26,8	1,47	28,8

CV = coefficiente di variazione, DS = deviazione standard

*Due campioni hanno fornito risultati non validi per l'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay e sono stati esclusi dall'analisi.

Nota: la variabilità da alcuni fattori potrebbe essere numericamente negativa. Ciò può verificarsi se la variabilità dovuta a tali fattori è piuttosto ridotta. In tali casi, i valori DS e CV sono indicati come pari a zero.

Tabella 31: Studio di precisione 2 dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: variabilità del segnale analita HPV 18/45 per gli elementi del pannello con risultato positivo atteso per HPV 18/45

Descrizione pannello (copie o cellule/reazione)	N	S/CO medio	Tra strumenti diversi		Tra operatori diversi		Tra lotti diversi		Tra liste di lavoro		All'interno delle liste di lavoro		Totale	
			DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
IVT HPV 18 (260 copie) Positivo alto	162	5,56	0,08	1,5	0,06	1,1	0,05	0,9	0,13	2,4	0,14	2,6	0,23	4,1
IVT HPV 45 (350 copie) Positivo alto	162	5,09	0,16	3,1	0,00	0,0	0,54	10,6	0,46	9,1	0,12	2,3	0,74	14,5
Campione clinico 1 HPV 18/45 Positivo alto	161*	6,22	0,10	1,7	0,00	0,0	0,26	4,2	0,00	0,0	1,06	17,1	1,10	17,7
Cellule SiHa (4 cellule) - positivo alto e cellule HeLa (0,7 cellule) - positivo basso	162	4,59	0,00	0,0	0,07	1,5	0,07	1,4	0,20	4,3	0,23	5,0	0,32	6,9
Cellule SiHa (0,4 cellule) - positivo basso e cellule HeLa (7 cellule) - positivo alto	162	4,78	0,00	0,0	0,08	1,7	0,00	0,0	0,30	6,3	0,24	5,0	0,39	8,2
Cellule HeLa (0,7 cellule) Positivo basso	162	5,08	0,08	1,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,15	3,0	0,31	6,1	0,35	7,0
Cellule MS751 (0,2 cellule) Positivo basso	159*	3,19	0,18	5,7	0,36	11,2	0,71	22,4	0,15	4,7	1,36	42,6	1,59	50,0
IVT HPV 18 (26 copie) Positivo basso	162	5,38	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,23	4,4	0,25	4,7	0,35	6,4
IVT HPV 45 (35 copie) Positivo basso	162	4,79	0,31	6,4	0,11	2,3	0,55	11,4	0,62	13,0	0,50	10,5	1,02	21,4
Campione clinico 2 HPV 18/45 Positivo basso	162	3,21	0,00	0,0	0,02	0,8	0,36	11,1	0,00	0,0	1,14	35,5	1,20	37,2
Campione clinico 3 HPV 18/45 Positivo basso	162	4,09	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,15	3,6	1,33	32,6	1,34	32,8

CV = coefficiente di variazione, DS = deviazione standard

*Due campioni hanno fornito risultati non validi per l'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay e sono stati esclusi dall'analisi.

Nota: la variabilità da alcuni fattori potrebbe essere numericamente negativa. Ciò può verificarsi se la variabilità dovuta a tali fattori è piuttosto ridotta. In tali casi, i valori DS e CV sono indicati come pari a zero.

Reattività crociata

Nota: L'analisi con gli organismi potenzialmente cross-reattivi per l'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay è stata eseguita con il sistema Tigris DTS. L'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay è stato lanciato inizialmente sul sistema Tigris DTS nel 2012. Nel 2013 le indicazioni d'uso sono state estese all'utilizzo dell'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sul Panther System. Il Panther System è una piattaforma di strumenti più piccola e alternativa al sistema Tigris DTS. Entrambi i sistemi sono concepiti per la completa automazione dell'analisi dell'acido nucleico amplificato nei test diagnostici. Determinati test di prestazione eseguiti sul sistema Tigris DTS sono stati utilizzati per supportare le prestazioni di analisi sul Panther System.

La specificità analitica dell'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay è stata valutata con i pool dei campioni residui per citologia in fase liquida ThinPrep diluiti 1:2,9 in STM (paragonabili ai campioni trasferiti in una provetta di trasporto Aptima) e addizionati con batteri, lieviti o funghi in coltura, virus in coltura o trascritti *in vitro* di HPV non target. Gli organismi e le concentrazioni di analisi per le quali non è stata osservata reattività crociata sono identificati in Tabella 32. I criteri di studio per la valutazione dell'effetto della presenza dei microrganismi sulla specificità del test si sono basati sulla positività.

Tabella 32: Pannello di specificità analitica: organismi e concentrazioni senza reattività crociata

Organismo	Test Concentrazione di analisi senza reattività crociata	Organismo	Test Concentrazione di analisi senza reattività crociata
Batteri			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Actinomyces israelii</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Listeria monocytogenes</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Atopobium vaginae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Bacteroides fragilis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Mycoplasma genitalium*</i>	2,5x10 ⁶ copie/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Mycoplasma hominis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Campylobacter jejuni</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1x10 ⁵ IFU/mL	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Clostridium difficile</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Prevotella bivia</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Enterobacter cloacae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Enterococcus faecalis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Escherichia coli</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL		
Genotipi di HPV ad alto rischio non target*			
HPV 31	2,5x10 ⁶ copie/ml	HPV 56	2,5x10 ⁶ copie/ml
HPV 33	2,5x10 ⁶ copie/ml	HPV 58	2,5x10 ⁶ copie/ml
HPV 35	2,5x10 ⁶ copie/ml	HPV 59	2,5x10 ⁶ copie/ml
HPV 39	2,5x10 ⁶ copie/ml	HPV 66	2,5x10 ⁶ copie/ml

Tabella 32: Pannello di specificità analitica: organismi e concentrazioni senza reattività crociata (*continua*)

Organismo	Test Concentrazione di analisi senza reattività crociata	Organismo	Test Concentrazione di analisi senza reattività crociata
HPV 51	2,5x10 ⁶ copie/ml	HPV 68	2,5x10 ⁶ copie/ml
HPV 52	2,5x10 ⁶ copie/ml		
Lieviti/protozoi			
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Trichomonas vaginalis</i> **	1 x 10 ⁵ cellule/ml
Virus			
Adenovirus	5,25x10 ⁷ UFP/ml	HIV-1	2,5x10 ⁶ copie/ml
Cytomegalovirus	1,58x10 ⁶ DICT ₅₀ /ml	Virus dell[APOS]Herpes simplex 1	3,39x10 ⁶ DICT ₅₀ /ml
Virus di Epstein-Barr	1,59x10 ⁵ DT ₅₀ /ml	Virus dell[APOS]Herpes simplex 2	2,29x10 ⁶ DICT ₅₀ /ml
Altri genotipi di HPV non target*			
HPV 6	2,5x10 ⁶ copie/ml	HPV 53	2,5x10 ⁶ copie/ml
HPV 11	2,5x10 ⁶ copie/ml	HPV 67	2,5x10 ⁶ copie/ml
HPV 26	2,5x10 ⁶ copie/ml	HPV 69	2,5x10 ⁶ copie/ml
HPV 30	2,5x10 ⁶ copie/ml	HPV 70	2,5x10 ⁶ copie/ml
HPV 34	2,5x10 ⁶ copie/ml	HPV 73	2,5x10 ⁶ copie/ml
HPV 42	2,5x10 ⁶ copie/ml	HPV 82	2,5x10 ⁶ copie/ml
HPV 43	2,5x10 ⁶ copie/ml	HPV 85	2,5x10 ⁶ copie/ml
HPV 44	2,5x10 ⁶ copie/ml		

CFU = unità formanti colonie, UFP = unità formanti placche, DT₅₀ = dose di trasformazione mediana, DICT₅₀ = dose infettante mediana per colture di tessuti

*Trascritto *in vitro* analizzato.

**Nonostante non sia stato riscontrato alcun tipo di reattività crociata per *Trichomonas vaginalis*, è stata osservata un'interferenza (vedere sotto).

La sensibilità analitica dell'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay in presenza di microrganismi è stata valutata con lo stesso pannello descritto in Tabella 32, che è stato anche addizionato con una bassa concentrazione di cellule SiHa infettate da HPV (1,6 cellule per reazione) e con cellule HeLa infettate da HPV (0,3 cellule per reazione). I criteri di studio per la valutazione dell'effetto della presenza dei microrganismi sulla specificità del test si sono basati sulla positività. La presenza dei microrganismi non ha interferito con l'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay ad eccezione di *Trichomonas vaginalis* (TV). L'interferenza è stata osservata quando TV era presente in concentrazioni superiori a 3 x 10⁴ cellule/ml.

Interferenza

Nota: L'analisi con le sostanze potenzialmente interferenti per l'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay è stata eseguita con il sistema Tigris DTS. L'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay è stato lanciato inizialmente sul sistema Tigris DTS nel 2012. Nel 2013 le indicazioni d'uso sono state estese all'utilizzo dell'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay sul Panther System. Il Panther System è una piattaforma di strumenti più piccola e alternativa al sistema Tigris DTS. Entrambi i sistemi sono concepiti per la completa automazione dell'analisi dell'acido nucleico amplificato nei test diagnostici. Determinati test di prestazione eseguiti sul sistema Tigris DTS sono stati utilizzati per supportare le prestazioni di analisi sul Panther System.

Le sostanze descritte in Tabella 33 sono state aggiunte singolarmente ai pool di campioni per citologia in fase liquida ThinPrep diluiti 1:2,9 in STM alle concentrazioni specificate nella tabella. Tutte le sostanze sono state analizzate con l'Aptima HPV 16 18/45 genotype assay in presenza e in assenza di cellule in coltura infette da HPV (SiHa, 1,6 cellule/reazione e HeLa, 0,3 cellule/reazione). L'interferenza è stata osservata con le seguenti sostanze se presenti in concentrazioni superiori a quelle specificate: lubrificanti vaginali (contenenti Polyquaternium 15) in concentrazione 1% p/v, crema antimicotica (contenente tioconazolo) in concentrazione 0,03% p/v, muco in concentrazione 0,3% p/v, ormoni intravaginali (contenenti progesterone) in concentrazione 1% p/v.

Tabella 33: Sostanze testate per possibile interferenza con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Categoria di prodotto	Tipo e marca del prodotto	Concentrazione più alta analizzata che non ha interferito con il test*
Lubrificante vaginale	Liquido lubrificante KY natural feeling	v/v al 10%
	Liquido lubrificante intimo up & up (marca Target)	
	Astroglide**	p/v 1%
Gelatina spermicida/ contraccettiva	Schiuma contraccettiva vaginale (VCF)	p/v 10%
	Gel contraccettivo vaginale Options Conceptrol	
Crema antimicotica	up & up (marca Target) Miconazolo 3	p/v 10%
	Confezione multipla Monistat 3	
	up & up (marca Target) Tioconazolo 1	p/v 0,03%
Lavanda vaginale	Lavanda vaginale Summer's Eve	v/v al 10%
	up & up (marca Target) lavanda vaginale	
Spray intimo	Deodorante spray intimo Summer's Eve	p/v 10%
	FDS Feminine Deodorant Spray	
Muco	Mucina di suino	p/v 0,3%
Ormoni intravaginali	Crema vaginale Estrace (estrogeni)	p/v 10%
	Crema Crinone (progesterone)	p/v 1%
Sangue intero***	sangue intero	v/v al 5%
Leucociti	leucociti	1 x 10 ⁷ cellule/ml
Soluzione di lavaggio a base di acido acetico glaciale [^]	Acido acetico glaciale + soluzione CytoLyt	v/v al 2,6%

*Concentrazione nel campione di analisi; campione per citologia in fase liquida ThinPrep diluito 1:2,9 in STM (paragonabile al campione trasferito in una provetta di trasporto Aptima).

**Lubrificante intimo contenente Polyquaternium 15.

***Il sangue intero ha interferito con il test se presente a una concentrazione di analisi del 10% v/v.

[^]Soluzione di lavaggio a base di acido acetico glaciale preparata miscelando 1 parte di acido acetico glaciale e 9 parti di soluzione CytoLyt come spiegato nel Manuale dell'operatore dei sistemi ThinPrep.

Bibliografia

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

Recapiti e Cronologia delle revisioni



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



Indirizzo dello sponsor australiano:
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd
Macquarie Park NSW 2113



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Per l'indirizzo e-mail e il numero di telefono dell'assistenza tecnica e del servizio clienti specifici del Paese, visitare www.hologic.com/support.

Questo prodotto è destinato esclusivamente all'uso nel campo della diagnostica umana *in vitro*.

Incidenti gravi verificatisi in relazione al dispositivo nell'Unione europea devono essere segnalati al fabbricante e all'autorità competente dello Stato membro in cui l'utilizzatore e/o il paziente è stabilito;

Hologic, Aptima, DTS, Genesis, Panther, PreservCyt, ThinPrep e Tigris sono marchi commerciali e/o marchi commerciali registrati di Hologic, Inc. e/o delle aziende consociate negli Stati Uniti e/o in altri Paesi.

SUREPATH e PREPSTAIN sono marchi commerciali di TriPath Imaging, Inc.

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

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

© 2007-2022 Hologic, Inc. Tutti i diritti riservati.
AW-22203-701 Rev. 001
2022-09

Cronologia delle revisioni	Data	Descrizione
AW-22203 Rev. 001	Settembre 2022	<ul style="list-style-type: none"> Creazione delle Istruzioni per l'uso per l'Aptima HPV-GT assay AW-22203 Rev. 001 sulla base di AW-11504 Rev. 010 per la conformità normativa con il Regolamento sui dispositivi medico diagnostici in vitro (IVDR). Informazioni UE aggiornate sui rischi Sezioni aggiornate su Informazioni generali sull'uso previsto, Avvertenze e precauzioni, Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti, Procedure di controllo della qualità, Raccolta e conservazione dei campioni, Reagenti e materiali forniti, Materiali richiesti e disponibili separatamente e Prestazioni di dosaggio del Panther System. Tabelle 18 e 19 aggiornate da Prestazioni cliniche di Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con sezione Campioni per citologia in fase liquida SurePath. Informazioni di contatto aggiornate, tra cui: informazioni relative al rappresentante presso la Comunità europea, al marchio CE, al rappresentante australiano e all'assistenza tecnica