

Test Aptima HPV Assay (Panther System)

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

Informazioni generali	2
Uso previsto	2
Sommario e spiegazione del test	2
Principi della procedura	3
Sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione	4
Avvertenze e precauzioni	4
Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti	7
Raccolta e conservazione dei campioni	8
Panther System	10
Reagenti e materiali forniti	10
Materiali richiesti ma disponibili separatamente	11
Materiali opzionali	12
Procedura di analisi con il Panther System	12
Note procedurali	15
Procedure di controllo qualità	16
Interpretazione del test	17
Limiti	18
Risultati attesi sul Panther System: prevalenza di mRNA dell'HPV ad alto rischio	20
Prestazioni del Panther System Assay	23
Bibliografia	54
Recapiti e Cronologia delle revisioni	56

Informazioni generali

Uso previsto

L'Aptima HPV Assay (Dosaggio HPV Aptima) è un test di amplificazione del target mediante sonde di acidi nucleici per il rilevamento qualitativo *in vitro* dell'RNA messaggero (mRNA) virale E6/E7 da 14 tipi di papillomavirus umano (HPV) ad alto rischio (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68). L'Aptima HPV Assay non differenzia i 14 tipi ad alto rischio.

- L'uso dell'Aptima HPV Assay è indicato per lo screening di donne sottoposte a Pap test con risultati di cellule squamose atipiche di significato indeterminato (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) per stabilire la necessità di procedere con la colposcopia. I risultati di questo test non hanno lo scopo di impedire alle donne di procedere con una colposcopia.
- L'Aptima HPV Assay può essere utilizzato con la citologia cervicale per lo screening aggiuntivo (co-test), allo scopo di valutare la presenza o l'assenza di tipi di HPV ad alto rischio. Queste informazioni, insieme alla valutazione del medico dell'anamnesi citologica, di altri fattori di rischio e delle linee guida professionali, possono essere utilizzate per guidare la gestione del paziente.
- L'Aptima HPV Assay può essere utilizzato come test primario per lo screening, con o senza citologia cervicale, per identificare le donne soggette a un aumento del rischio di sviluppare un tumore della cervice o patologie di alto grado. Queste informazioni, insieme alla valutazione della storia di screening della paziente eseguita dal medico, ad altri fattori di rischio e alle linee guida professionali, possono essere utilizzate per suggerire la gestione della paziente.

L'Aptima HPV Assay può essere utilizzato per analizzare i seguenti tipi di campioni sul Panther System: campioni cervicali raccolti dal medico in fiale ThinPrep per pap test contenenti la soluzione PreservCyt per trattamento pre o post-pap, campioni cervicali raccolti con Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit (Kit di raccolta e trasporto di campioni biologici cervicali), campioni cervicali raccolti nel liquido conservante SurePath o campioni di tampone vaginale raccolti dalla paziente nell'Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit (Kit di raccolta dei campioni di tampone Multitest Aptima).

Sommario e spiegazione del test

Il cancro cervicale è uno dei cancro più diffusi tra le donne nel mondo. L'HPV è l'agente eziologico responsabile per più del 99% di tutti i casi di cancro cervicale.^{1, 2, 3} L'HPV è un virus a DNA comunemente trasmesso per via sessuale che include più di 100 genotipi.⁴

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'HPV. I geni E6 e 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 patogeni o ad alto rischio per la cervicopatìa.⁵ Diversi 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 associata a uno di questi genotipi, presentano un rischio maggiore di sviluppare una displasia grave o un carcinoma cervicale.^{5, 8}

Le infezioni da HPV sono molto frequenti e la maggior parte delle donne guarisce entro 6-12 mesi.^{2, 9} La presenza dell'acido nucleico dell'HPV non implica la presenza di una displasia cervicale o di un cancro cervicale. Tuttavia, un approccio efficace per l'individuazione della cervicopatia consiste nell'identificare gli elementi oncogenici dell'HPV che favoriscono l'infezione virale persistente e la trasformazione cellulare.¹⁰

Prestazioni cliniche dell'Aptima HPV Assay nello screening primario per il tumore della cervice

Le prestazioni cliniche del test Aptima HPV Assay, se impiegato nella modalità di screening preliminare, sono state analizzate in studi multipli condotti da ricercatori indipendenti. Almeno 25 pubblicazioni peer-reviewed¹¹⁻³⁵ originate da 15 studi clinici distinti riportano le prestazioni di Aptima HPV nello screening preliminare eseguito su donne arruolate in undici paesi (Cina, Canada, Francia, Messico, Inghilterra, Danimarca, Paesi Bassi, Stati Uniti, Germania, Svezia e Thailandia). I dati di questi studi mostrano che l'Aptima HPV offre, a paragone con altri test per HPV validati clinicamente, prestazioni cliniche simili, se impiegato per lo screening preliminare di lesioni precancerose e cancerose.

Principi della procedura

L'Aptima HPV Assay prevede tre fasi principali, che si svolgono in una singola provetta: cattura del target; amplificazione del target con amplificazione mediata da trascrizione (Transcription-Mediated Amplification, TMA)⁴² e rilevamento dei prodotti dell'amplificazione (ampliconi) mediante analisi con protezione dell'ibridizzazione (Hybridization Protection Assay, HPA).⁴³ 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 dello strumento.

I campioni vengono raccolti o trasferiti in una provetta contenente un terreno di trasporto dei campioni (STM), che provoca la lisi delle cellule, libera l'mRNA e lo protegge dalla degradazione durante la conservazione. Durante l'esecuzione dell'Aptima HPV Assay, l'mRNA target viene isolato dal campione mediante oligomeri di cattura legati a microparticelle magnetiche. Gli oligomeri di cattura contengono sequenze complementari a regioni specifiche delle molecole target dell'mRNA dell'HPV, oltre ad un filamento di residui di deossiadenosina. Durante la fase di ibridazione, le regioni specifiche delle sequenze degli oligomeri di cattura si legano a regioni specifiche della molecola target di mRNA dell'HPV. Il complesso oligomero di cattura:target viene quindi catturato dalla soluzione mediante riduzione della temperatura di reazione fino a temperatura ambiente. Questa riduzione della temperatura permette che si verifichi l'ibridazione fra la regione della deossiadenosina sull'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'amplificazione.

Una volta completata la cattura del target, l'mRNA dell'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'RNA T7. La trascrittasi inversa viene usata per generare una copia del DNA della sequenza dell'mRNA target contenente una sequenza promotrice per la polimerasi dell'RNA T7. La polimerasi dell'RNA T7 produce copie multiple di amplicon di RNA dal modello della copia di DNA.

L'amplicon viene individuato mediante HPA mediante sonde di acido nucleico a singolo filamento con marcatori chemiluminescenti che sono complementari all'amplicon. Le sonde di acido nucleico marcate si ibridizzano specificamente con l'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 l'individuazione del target. In ciascuna reazione, il segnale dell'IC viene distinto dal segnale dell'HPV per via della diversa cinetica di emissione luminosa delle sonde con differenti marcatori.⁴⁴ L'amplicone specifico dell'IC viene individuato mediante una sonda con rapida emissione di luce (segnale "flash") L'amplicone specifico dell'HPV viene rilevato usando sonde con cinetica di emissione di luce relativamente più lenta (segnale "glow"). Il test cinetico doppio (Dual Kinetic Assay, DKA) è un metodo usato per differenziare i segnali provenienti da marcatori con segnale "flash" e "glow".⁴⁴

Sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione

L'SSP (Sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione) è disponibile nella banca dati europea dei dispositivi medici (Eudamed), dove è collegata agli identificativi del dispositivo (UDI-DI di base). Per individuare l'SSP dell'Aptima HPV, fare riferimento al seguente Basic Unique Device Identifier (BUDI): **54200455DIAGAPHPVBR**.

Avvertenze e precauzioni

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

Pertinenti al laboratorio

- D. Usare 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 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 - Sostanza irritante e corrosiva:** evitare il contatto dell'Auto Detect 2 con la pelle, gli occhi e le 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% (da 0,35 M a 0,5 M). Consultare la sezione *Procedura di analisi con il Panther System* per maggiori informazioni.
- H. Utilizzare le buone pratiche standard per i laboratori molecolari che includono il monitoraggio ambientale.

Pertinenti ai campioni

- I. Mantenere le corrette condizioni di temperatura durante la spedizione e la conservazione del campione, per assicurarne l'integrità. La stabilità del campione non è stata valutata in condizioni di spedizione e conservazione diverse da quelle raccomandate.
- J. Le date di scadenza indicate sui kit e nelle provette di raccolta/trasferimento si riferiscono al centro di raccolta/trasferimento e non alla struttura di analisi. I campioni raccolti/trasferiti in qualsiasi momento precedente a queste date di scadenza sono validi per l'analisi purché siano stati trasportati e conservati secondo le istruzioni incluse nel rispettivo foglio illustrativo, anche se queste date di scadenza sono state superate.
- K. Attenersi alle precauzioni universali e ai protocolli di laboratorio stabiliti per la manipolazione sicura, lo smaltimento e la prevenzione della contaminazione crociata. L'esecuzione di questa procedura è consentita solo a personale adeguatamente addestrato nella manipolazione di materiali infettivi.
- L. Cambiare immediatamente i guanti in caso di contatto con i campioni. Per evitare la contaminazione crociata, smaltire il materiale utilizzato senza farlo passare su altri contenitori.
- M. In certe condizioni, il liquido può fuoriuscire dai tappi delle provette quando vengono forati. Per impedire questa evenienza, seguire le istruzioni nella sezione *Procedura di analisi con il Panther System*.
- N. I campioni per citologia in fase liquida ThinPrep e i campioni prelevati con il kit di raccolta e trasporto dei campioni cervicali (Cervical Specimen Collection and Transport, CSCT) devono essere scartati se nella provetta del campione è rimasto un dispositivo di prelievo.
- O. I campioni per citologia in fase liquida SurePath devono essere scartati se nella fiala non è presente un dispositivo di prelievo.
- P. Se il laboratorio riceve una provetta di trasporto dell'Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit che non contiene alcun tampone o contiene due tamponi, un tampone di pulizia o un tampone non fornito da Hologic, il campione deve essere rifiutato.

Pertinenti al test

- Q. Adottare le precauzioni universali.
- R. Conservare i reagenti alle temperature specificate. L'uso di reagenti conservati in modo erraneo può influire sulle prestazioni del test.
- S. Evitare la contaminazione microbica e da ribonucleasi dei reagenti.
- T. Non usare il kit dopo la data di scadenza.
- U. Non scambiare, mescolare o combinare reagenti o calibratori provenienti da kit con numeri di lotto diversi.
- V. I liquidi del test Aptima e i reagenti Auto Detect Aptima non fanno parte del lotto master; è possibile utilizzare qualsiasi lotto.
- W. Per ottenere risultati accurati del test, è necessaria una miscelazione accurata dei reagenti del test.
- X. Usare puntali con tappi idrofobi.

- Y. Alcuni reagenti di questo kit riportano, sulle rispettive etichette, delle indicazioni di pericolo e dei simboli di sicurezza.

Nota: le comunicazioni di pericolo utilizzano le classificazioni delle schede di sicurezza (SDS) dell'UE. Per informazioni relative alla comunicazione sui pericoli specifiche per la propria regione, fare riferimento alla scheda SDS specifica della regione nella Raccolta delle schede di sicurezza all'indirizzo www.hologicsds.com. Per ulteriori informazioni sui simboli, fare riferimento alla legenda dei simboli alla pagina <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Informazioni sui rischi per l'UE	
 	Selection Reagent Acido boracico 1 – 5% Triton X-100 1 – 5% Idrossido di sodio <1% — PERICOLO H315 – Provoca irritazione cutanea. H360FD – Può nuocere alla fertilità. Può nuocere al feto. P264 – Lavare accuratamente viso, mani ed eventuale superficie cutanea esposta dopo l'uso. P280 – Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. P302 + P352 - IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone. P332 + P313 - In caso di irritazione della pelle: consultare un medico. P362 + P364 - Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente. P201 – Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso. P202 – Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le avvertenze. P308 + P313 - IN CASO di esposizione o di possibile esposizione: consultare un medico. P405 – Conservare sotto chiave. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.
	Target Capture Reagent HEPES 5 – 10% EDTA 1 – 5% Idrossido di litio, monoidrato 1 – 5% — — H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.
—	Amplification Reagent HEPES 25 – 30% — — H402 - Nocivo per gli organismi acquatici. H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.
—	Enzyme Reagent HEPES 1 – 5% Triton X-100 1 – 5% — — H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.

—	Probe Reagent LAURILSOLFATO, SALE DI LITIO 35 – 40% ACIDO SUCCINICO 10 – 15% — H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.
—	Enzyme Reconstitution Solution Glicerina 20 – 25% Triton X-100 5 – 10% HEPES 1 – 5% — H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.

Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti

Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza indicata 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.
 - Reagente enzimatico HPV.
 - Reagente sonda HPV.
 - Reagente di controllo interno HPV.
 - Calibratori positivi e calibratori negativi HPV.
- B. Conservare i seguenti reagenti a temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C (temperatura ambiente):
 - Soluzione di ricostituzione per amplificazione HPV.
 - Soluzione di ricostituzione dell'enzima HPV.
 - Soluzione di ricostituzione della sonda HPV.
 - Reagente di cattura del target HPV.
 - Reagente di selezione HPV.
- C. Dopo la ricostituzione, i seguenti reagenti sono stabili per 30 giorni se conservati a temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C:
 - Reagente di amplificazione HPV.
 - Reagente enzimatico HPV.
 - Reagente sonda HPV.
- D. Il reagente di cattura del target di lavoro (Working Target Capture Reagent, wTCR) è stabile per 30 giorni se conservato a 15 °C – 30 °C. Non refrigerare.
- E. Eliminare dopo 30 giorni o dopo la data di scadenza del lotto master (la prima delle due evenienze) tutti i reagenti ricostituiti e wTCR non utilizzati.
- F. I reagenti del test Aptima HPV 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

Nota: *Maneggiare tutti i campioni come se contenessero agenti potenzialmente infettivi. Adottare le precauzioni universali.*

A. Raccolta e trattamento dei campioni.

Campioni per citologia in fase liquida ThinPrep:

1. Raccogliere i campioni cervicali in 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 il processore ThinPrep 2000, con il processore ThinPrep 5000, con il processore ThinPrep 5000 con autoloader e con il processore ThinPrep Genesis, trasferire 1 ml del campione per citologia in fase liquida ThinPrep in una provetta di trasporto del campione Aptima, secondo le istruzioni contenute nel foglietto illustrativo del kit di trasporto dei campioni Aptima e della soluzione di trasporto 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 trasporto del campione Aptima, secondo le istruzioni riportate nel foglietto illustrativo del kit di trasporto dei campioni Aptima e della soluzione di trasporto Aptima.

Campioni del kit di raccolta e trasporto di campioni cervicali Aptima.

1. Raccogliere il campione seguendo le istruzioni per l'uso del kit CSCT Aptima.

Campioni dell'Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit

1. Raccogliere il campione secondo le istruzioni per l'uso dell'Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit.

B. Trasporto e conservazione prima dell'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, il campione per citologia in fase liquida ThinPrep o il campione per citologia in fase liquida ThinPrep diluito nella provetta di trasferimento del campione può essere conservato a - 20 °C o a temperature inferiori 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.

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 occorre conservarli più a lungo, i campioni del kit di trasporto possono essere conservati a - 20 °C o a temperature inferiori per un massimo di 24 mesi.

Campioni dell'Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit

1. Trasporto dei campioni
 - a. Trasportare a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C.
 - b. I campioni devono pervenire al laboratorio entro 5 giorni dal prelievo.
 2. Conservazione dei campioni prima dell'analisi
 - a. Opzione 1: I campioni possono essere conservati da 2°C a 8°C per un massimo di 30 giorni.
 - b. Opzione 2: I campioni possono essere conservati da 15°C a 30°C per un massimo di 30 giorni.
- C. Trattamento dei campioni per citologia in fase liquida SurePath:

Nota - prima di essere analizzati con l'Aptima HPV Assay, i campioni per citologia in fase liquida SurePath devono essere trattati con la soluzione di trasporto Aptima.

1. Soluzione di trasporto Aptima

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 il test Aptima HPV Assay. Per ulteriori dettagli, consultare il foglietto illustrativo del kit di trasporto dei campioni Aptima e della soluzione di trasporto Aptima.

D. Conservazione dei campioni dopo l'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'altra struttura, occorre mantenere le temperature specificate. Prima di togliere i tappi dalle provette dei campioni precedentemente analizzati, 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 - La spedizione dei campioni deve essere effettuata in conformità ai regolamenti applicabili relativi al trasporto nazionale e internazionale.

Panther System

Sono elencati di seguito i reagenti dell'Aptima HPV Assay per il Panther System. Accanto al nome di ciascun reagente è indicato anche il rispettivo simbolo identificativo.

Reagenti e materiali forniti

Aptima HPV Assay, 250 test, n. di cat. 303093 (3 scatole).

Aptima HPV Assay, 100 test, n. di cat. 302929 (3 scatole).

I calibratori possono essere acquistati separatamente. Vedere qui di seguito i singoli numeri di catalogo.

Scatola refrigerata Aptima HPV (alla consegna, conservare a 2 °C – 8 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
A	Reagente di amplificazione HPV <i>Acidi nucleici non infettivi liofilizzati in soluzione tamponata contenente < 5% di agente di riempimento.</i>	1 fiala
E	Reagente enzimatico HPV <i>Trascrittasi inversa e RNA polimerasi liofilizzate in soluzione tamponata HEPES contenente < 10% di reagente di riempimento.</i>	1 fiala
P	Reagente sonda HPV <i>Sonde di DNA non infettive chemiluminescenti (< 500 ng/fiala) liofilizzate in soluzione tampone succinato contenente < 5% di detergente.</i>	1 fiala
IC	Reagente di controllo interno HPV <i>Trascritto di RNA non infettivo in soluzione tamponata contenente < 5% di detergente.</i>	1 fiala

Scatola a temperatura ambiente Aptima HPV (alla consegna, conservare a temperatura ambiente compresa fra 15 °C e 30 °C)

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

Scatola di calibratori HPV Aptima (N. cat. 302554)
(alla consegna, conservare a 2 °C – 8 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
PCAL	Calibratore positivo HPV <i>Trascritto in vitro di HPV 16 non infettivo, in concentrazione di 1.000 copie per ml, in soluzione tamponata contenente < 5% di detergente.</i>	5 fiale
NCAL	Calibratore negativo HPV <i>Soluzione tamponata contenente < 5% di detergente.</i>	5 fiale

Materiali richiesti ma disponibili separatamente

Nota - Salvo altrimenti specificato, per i materiali disponibili presso Hologic sono indicati i rispettivi numeri di catalogo.

Materiale	N. cat.
Panther System	303095
Panther Fusion System	PRD-04172
Smaltimento continuo di liquidi e rifiuti Panther System (Panther Plus)	PRD-06067
Kit sessione analitica Panther	303096
<i>Kit di liquidi per test Aptima Assay (Soluzione di lavaggio Aptima, tampone per liquido di disattivazione Aptima e reagente oleoso Aptima)</i>	303014
<i>Kit Auto Detect Aptima</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 da 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 trasporto dei campioni Aptima	301154C
Kit di trasporto dei campioni Aptima (stampabile)	PRD-05110
Kit di raccolta e trasporto dei campioni cervicali Aptima	302657
Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit	PRD-03546
Tappi penetrabili Aptima	105668
Tappi non penetrabili di ricambio	103036A
Tappi di riserva per 250 kit di analisi:	—
<i>Soluzioni di ricostituzione per reagente di amplificazione e reagente sonda</i>	CL0041
<i>Soluzione di ricostituzione per reagente enzimatico</i>	501616
<i>Reagente di cattura del target e reagente di selezione</i>	CL0040
Tappi di riserva 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 5,0% - 8,25% (0,7 M - 1,16 M)	—
Guanti monouso	—
Kit della soluzione di trasporto Aptima (solo per campioni SurePath)	303658

Materiali opzionali

Materiale	N. Cat.
Potenziatore di candeggina per pulizia Hologic	302101
Blocco riscaldante	—
Agitatore oscillante per provette	—

Procedura di analisi con il Panther System

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

A. Preparazione dell'area di lavoro.

1. 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 – 0,5 M). Lasciare la soluzione di ipoclorito di sodio a contatto con le superfici per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua deionizzata (DI). Non lasciare asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio. Coprire la superficie del banco sul quale verranno preparati reagenti e campioni con teli da banco di laboratorio puliti, assorbenti e plastificati.
2. Pulire una superficie di lavoro separata su cui preparare i campioni. Utilizzare la procedura descritta in precedenza (passaggio A.1).
3. Pulire eventuali pipettatori. Utilizzare la procedura di pulizia descritta in precedenza (passaggio A.1).

B. Preparazione del reagente di un nuovo kit.

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

1. Prima di eseguire l'analisi, i reagenti di amplificazione, enzimatico e sonda devono essere ricostituiti combinando il contenuto dei flaconi di reagente liofilizzato con la soluzione di ricostituzione appropriata.
 - a. Lasciare che i reagenti liofilizzati raggiungano la temperatura ambiente (tra 15 °C e 30 °C) prima dell'uso.
 - b. Abbinare ciascuna soluzione di ricostituzione al rispettivo reagente liofilizzato. Prima di fissare il collare di ricostituzione, assicurarsi che la soluzione di ricostituzione e il reagente presentino simboli delle etichette uguali.
 - c. Controllare i numeri di lotto sul foglio dei codici a barre dei lotti master per assicurarsi di abbinare i reagenti appropriati. Etichettare i tappi dei flaconi contenenti la soluzione di ricostituzione.
 - d. Aprire la fiala di vetro del reagente liofilizzato e inserire saldamente l'estremità indentata del collare di ricostituzione nell'apertura della fiala di vetro (Figura 1, passaggio 1).
 - e. Aprire il flacone di soluzione di ricostituzione corrispondente e disporre il cappuccio su una superficie di lavoro pulita e coperta.
 - f. Tenendo il flacone della soluzione sul banco, inserire saldamente l'altra estremità del collare di ricostituzione nell'apertura del flacone (Figura 1, passaggio 2).
 - g. Capovolgere lentamente i flaconi collegati. Far scendere la soluzione dal flacone di ricostituzione nella fiala di vetro del reagente (Figura 1, Passaggio 3).

- h. Raccogliere i flaconi assemblati e rotarli per miscelare bene. Evitare di formare schiuma mentre si agita il flacone con movimento rotatorio (Figura 1, passaggio 4).
- i. Assicurarsi che il reagente liofilizzato si dissolva completamente. Roteare nuovamente i flaconi, quindi fare oscillare leggermente avanti e indietro la soluzione all'interno della fiala di vetro per miscelare bene.
- j. Verificare visivamente che il reagente sia completamente disciolto, senza tracce di polvere, grumi o striature.
- k. Inclinare di nuovo lentamente i flaconi assemblati per consentire a tutta la soluzione di drenare nuovamente nel flacone con la soluzione di ricostituzione (Figura 1, passaggio 5).
- l. Rimuovere il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 1, passaggio 6).
- m. Richiudere il flacone di plastica con il tappo conservato ed etichettato corrispondente al reagente oppure con un tappo nuovo. Non scambiare i tappi. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data di ricostituzione (Figura 1, passaggio 7).
- n. Smaltire il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 1, passaggio 8).
- o. Miscelare accuratamente ciascun reagente capovolgendolo con attenzione prima di caricarlo sul Panther System.

Opzione: È consentita un'ulteriore miscelazione dei reagenti di amplificazione, enzimatico e sonda posizionando i flaconi di plastica tappati su un agitatore oscillante per provette impostato a una velocità moderata e inclinato per un minimo di 5 minuti. Assicurarsi che i reagenti siano accuratamente miscelati.

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

Avvertenza - Per ottenere risultati accurati del test, è necessaria una miscelazione adeguata dei reagenti.

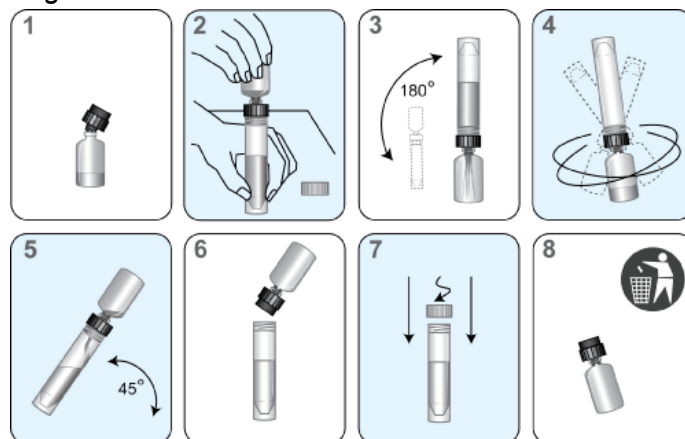


Figura 1. Procedimento di ricostituzione del Panther System

- 2. Preparare il reagente di cattura del target di lavoro (working Target Capture Reagent, wTCR).
 - a. Abbinare i flaconi di TCR e di 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 IC e versare l'intero contenuto nel flacone di TCR. E' 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'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.
 - g. Eliminare il flacone e il tappo dell'IC.
 - h. Nel wTCR può formarsi del 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 wTCR, lasciare che raggiunga la temperatura ambiente. Non utilizzare se il precipitato persiste.
3. Preparare il reagente di selezione:
- a. Verificare il numero di lotto del reagente sul foglio dei codici a barre dei lotti master per assicurarsi che appartenga al kit.
 - b. Se il reagente di selezione contiene del precipitato, riscaldarlo a 60 °C $\pm$ 1 °C per un massimo di 45 minuti per facilitare 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 sonda, di amplificazione ed enzimatico precedentemente ricostituiti devono essere portati a temperatura ambiente (temperatura compresa tra 15°C e 30 °C) prima di iniziare il test.

Opzione: I flaconi di plastica con tappo dei reagenti di amplificazione, enzimatico e sonda ricostituiti possono essere posizionati su un agitatore oscillante per provette impostato a velocità moderata e inclinato per un minimo di 25 minuti per garantire che i reagenti raggiungano la temperatura ambiente e siano accuratamente miscelati.

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 minuti. Prima di usare il wTCR, lasciare che raggiunga la temperatura ambiente. Non utilizzare se il precipitato persiste.
4. Se il reagente di selezione contiene del precipitato, riscaldarlo a 60 °C $\pm$ 1 °C per un massimo di 45 minuti per facilitare 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. Non riempire al massimo i flaconi dei reagenti. Il Panther System riconosce e rifiuta i flaconi riempiti al massimo.

D. Manipolazione dei campioni:

1. Per ciascun campione prelevato con l'Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit, seguire la procedura riportata di seguito:

- a. Verificare visivamente che all'interno della provetta di raccolta sia presente un solo tampone rosa Aptima Multitest.
- b. Riscaldare i campioni biologici di tampone multitest Aptima a 90 °C per 75 minuti prima del test. I campioni devono rimanere tappati durante questo processo.
2. Prima dell'analisi, lasciare che i calibratori e i campioni raggiungano la temperatura ambiente.
3. **Non miscelare i campioni con il vortex.**
4. Ispezionare le provette dei campioni prima di caricarle sulla rastrelliera. Se una provetta del campione contiene delle bolle o 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 - La mancata osservanza del passaggio 4 potrebbe causare un versamento di liquido dal tappo della provetta del campione.

E. Preparazione del sistema:

1. Impostare il sistema secondo le istruzioni contenute nel *Panther System Operator's Manual* (Manuale d'uso del Panther System) e nella sezione *Note procedurali* qui di seguito. Assicurarsi di utilizzare rastrelliere reagenti e adattatori TCR di dimensioni appropriate.
2. Caricare i campioni.

Note procedurali

A. Calibratori:

1. Per funzionare correttamente il software dell'Aptima HPV Assay sul Panther System, sono necessari tre replicati di calibratore positivo e tre replicati di calibratore negativo. È possibile caricare una fiala di ciascun calibratore in qualsiasi posizione della rastrelliera situata in qualunque corsia dello scomparto dei campioni sul Panther System. Il pipettaggio dei campioni inizierà una volta soddisfatte le due seguenti condizioni:
 - a. Il sistema sta eseguendo l'elaborazione di un calibratore positivo e di un calibratore negativo.
 - b. Il sistema ha registrato 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 test associato per un periodo di 24 ore, eccetto nei seguenti casi.
 - a. I risultati del calibratore sono non validi.
 - b. Il kit di reagenti del test associato viene rimosso dal sistema.
 - c. Il kit di reagenti del test associato ha superato i limiti di stabilità.
3. Se si tenta di pipettare più di tre replicati da una provetta di calibratore, è possibile che si verifichino errori di elaborazione.

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 qualità

A. Criteri di validità della sessione analitica.

Il software stabilisce automaticamente la validità della sessione analitica. Il software considera non valida una sessione analitica se si verifica una qualsiasi delle seguenti condizioni.

- Più di un replicato di calibratore negativo non valido.
- Più di un replicato di calibratore positivo non valido.

Una sessione analitica può essere considerata non valida da un operatore se si osservano e si documentano durante il test difficoltà tecniche, dell'operatore o dello strumento.

Una sessione di analisi non valida deve essere ripetuta.

B. Criteri di accettazione dei calibratori.

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

Calibratore negativo

Analita	$Fra \geq 0 \text{ e } \leq 45.000 \text{ RLU}$
IC	$Fra \geq 75.000 \text{ e } \leq 400.000 \text{ RLU}$

Calibratore positivo

Analita	$\geq 480.000 \text{ e } \leq 1.850.000 \text{ RLU}$
IC	$\leq 450.000 \text{ RLU}$

C. Calcolo del cutoff dell'IC.

Il cutoff dell'IC viene determinato in base al segnale dell'IC ("flash") proveniente dai replicati validi del calibratore negativo.

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

D. Calcolo del cutoff dell'analita.

Il cutoff dell'analita viene determinato in base al segnale dell'analita ("glow") proveniente dai replicati validi del calibratore negativo, nonché in base al segnale dell'analita proveniente dai replicati validi del calibratore positivo

$$\text{Cutoff analita} = \frac{[\text{RLU media dell'analita dei replicati validi del calibratore negativo}] + [0,09 \times \text{RLU media dell'analita dei replicati validi del calibratore positivo}]}{2}$$

E. Calcolo del rapporto segnale/cutoff analita (S/CO).

Il rapporto S/CO analita è determinato dall'RLU dell'analita del campione di analisi e dal cutoff dell'analita per la sessione analitica.

$$\text{S/CO analita} = \frac{\text{RLU dell'analita del campione di analisi}}{\text{Cutoff analita}}$$

Interpretazione del test

I risultati del test vengono determinati automaticamente dal software di dosaggio. Il risultato di un test può essere negativo, positivo o non valido, a seconda di quanto stabilito dall'IC RLU e dall'S/CO per l'analita. Il primo risultato valido è il risultato da riportare sul referto. Un risultato del test può anche essere non valido a causa di altri parametri (forma della curva cinetica anomala) che si trovano al di fuori dei range normali previsti. I risultati del test non validi devono essere ripetuti. Se il risultato non è valido al momento del test, è necessario raccogliere un nuovo campione.

I campioni prelevati con il kit CSCT Aptima possono essere diluiti per eliminare gli effetti di eventuali sostanze inibitrici. Diluire 1 parte del campione non valido in 8 parti di mezzi di trasporto dei campioni (la soluzione nelle provette dei kit di CSCT); es. 560 µl di campione in una nuova provetta del kit di CSCT contenente 4,5 ml di mezzi di trasporto dei campioni. Capovolgere con attenzione il campione per miscelarlo, evitando di creare schiuma. Analizzare il campione diluito secondo la procedura standard del test.

Nota - Per analizzare un'aliquota di campione è necessario un volume minimo di 1,7 ml. Non diluire un campione diluito non valido. Se un campione diluito produce un risultato non valido, occorre ottenere un nuovo campione dal paziente.

Risultato dell'Aptima HPV Assay	Criteri
Negativo	<i>S/CO analita < 0,50</i> <i>IC ≥ Cutoff IC</i> <i>IC ≤ 2.000.000 RLU</i>
Positivo	<i>S/CO analita ≥ 0,50</i> <i>IC ≤ 2.000.000 RLU</i> <i>Analita ≤ 13.000.000 RLU</i>
Non valido	<i>IC > 2.000.000 RLU</i> <i>oppure</i> <i>S/CO analita < 0,50 e IC < cutoff IC</i> <i>oppure</i> <i>Analita > 13.000.000 RLU</i>

Limiti

- A. I tipi di campioni diversi da quelli identificati nell'uso previsto non sono stati valutati.
- B. Le prestazioni dell'Aptima HPV Assay non sono state valutate per i soggetti vaccinati contro l'HPV.
- C. L'Aptima HPV 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 inadeguati per l'Aptima HPV Assay.
- F. La rimozione di 1 ml di campione per citologia in fase liquida SurePath prima dell'analisi citologica non è stata valutata relativamente all'impatto sul risultato citologico.
- G. La raccolta, la conservazione o il trattamento dei campioni effettuati in modo inadeguato possono influire sui risultati del test.
- H. Il controllo interno serve a monitorare le fasi del test di cattura del target, amplificazione e rilevamento, non a controllare l'adeguatezza del prelievo cervicale.
- I. Un risultato negativo dell'Aptima HPV Assay non esclude la possibilità di anomalie citologiche o di CIN2, CIN3 futura o latente, o di cancro.
- J. Lubrificanti intimi contenenti poliquaternio 15 possono interferire con le prestazioni del test quando sono presenti in concentrazioni superiori allo 0,025% (v/v o p/v) di un campione di analisi.
- K. Farmaci antifungini contenenti tioconazolo possono interferire con le prestazioni del test quando sono presenti in concentrazioni superiori allo 0,075% (p/v) di un campione di analisi.
- L. Una crema solare contenente ossido di zinco può interferire con le prestazioni del test, se presente in concentrazioni superiori allo 2,5% (p/v) del campione di analisi.
- M. Una crema per le emorroidi contenente ossido di zinco, ossido di bismuto e balsamo del Perù può interferire con le prestazioni del test, se presente in concentrazioni superiori all'1% (p/v) del campione di analisi.
- N. Il muco può interferire con le prestazioni del test, se presente in concentrazioni superiori al 2,5% (p/v) del campione di analisi.
- O. L'Aptima HPV assay fornisce risultati qualitativi. Non può quindi essere tracciata una correlazione fra l'intensità di un segnale positivo del test e il livello di espressione di mRNA in un campione.
- P. l'individuazione dell'mRNA dell'HPV ad alto rischio 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.

- Q. 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 sviluppa CIN2, CIN3 o cancro.
- R. Gli effetti delle altre potenziali variabili quali perdite vaginali, uso di tamponi, lavande ecc. e delle variabili legate al prelievo dei campioni non sono stati valutati.
- S. Questo prodotto deve essere utilizzato esclusivamente da personale addestrato all'uso dell'Aptima HPV Assay.
- T. La contaminazione crociata di campioni può produrre risultati falsi positivi. Il tasso di contaminazione crociata del test Aptima HPV Assay sul Panther System è stato stimato essere pari allo 0,7% da uno studio non clinico.
- U. I risultati dell'Aptima HPV Assay devono essere interpretati contestualmente ad altri dati di laboratorio e ai dati clinici a disposizione del medico.
- V. Con questo test si possono ottenere risultati falsi positivi. I trascritti *in vitro* dei genotipi a basso rischio 26, 67, 70 e 82 hanno mostrato una reattività crociata con l'Aptima HPV Assay.
- W. Si possono osservare differenze di prestazioni con i campioni vaginali prelevati autonomamente rispetto ai campioni cervicali prelevati dal medico. Le pazienti che presentano risultati positivi su campioni vaginali prelevati autonomamente devono essere indirizzate a un medico per una valutazione di follow-up.

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

La prevalenza dell'infezione da HPV ad alto rischio varia notevolmente ed è influenzata da diversi fattori fra i quali l'età, che contribuisce in misura maggiore.^{36,37} Molti studi hanno esaminato la prevalenza dell'HPV in base ai dati ottenuti dall'individuazione del DNA dell'HPV, tuttavia sono pochi gli studi che riportano la prevalenza in base all'individuazione 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. Come determinato dall'Aptima HPV Assay sul Panther System, la prevalenza dei campioni positivi all'mRNA dell'HPV osservata nella sperimentazione clinica è stata suddivisa in categorie, complessivamente, per gruppo di età e per centro di analisi. I risultati sono riportati nella Tabella 1 per le popolazioni cellule squamose atipiche di significato indeterminato (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) e negativo per lesione intraepiteliale o malignità (Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy, NILM).

Tabella 1: Prevalenza di mRNA dell'HPV ad alto rischio per gruppo di età, centro di analisi e totale delle due categorie

	Percentuale di positività % (x/n)	
	Popolazione ASC-US (≥ 21 anni)	Popolazione NILM (≥ 30 anni)
Tutti	42,3 (404/956)	4,7 (512/10.860)
Gruppo di età (anni)		
Da 21 a 29	60,0 (251/418)	N/P
Da 30 a 39	38,1 (101/265)	6,8 (286/4.192)
≥ 40	19,0 (52/273)	3,4 (226/6.668)
Centro di analisi		
1	41,5 (134/323)	3,7 (304/8.286)
2	43,1 (137/318)	9,2 (118/1.285)
3	42,2 (133/315)	7,0 (90/1.289)

N/P = non pertinente

Progetto di studio clinico dell'Aptima HPV Assay con campioni per citologia in fase liquida ThinPrep

L'Aptima HPV Assay di Panther System è stato valutato utilizzando i campioni per citologia di riferimento residui raccolti da donne consenzienti durante lo studio clinico prospettico multicentro statunitense noto come Studio CLEAR.³⁸

Il test Aptima HPV Assay è stato lanciato inizialmente sul sistema Tigris DTS nel 2008. Nel 2011 le indicazioni d'uso sono state estese all'utilizzo del test Aptima HPV 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.

Studio CLEAR - Valutazione al follow-up

Lo studio multicentrico, noto come studio CLEAR, è stato condotto allo scopo di determinare le prestazioni cliniche dell'Aptima HPV Assay su Tigris DTS System per l'individuazione della neoplasia intraepiteliale cervicale di grado 2 o della cervicopatia di grado più alto ($\geq$ CIN2). Lo studio CLEAR comprendeva una valutazione al basale e una valutazione al follow-up della durata di 3 anni. Le donne sono state inserite nello studio ASC-US o nello studio NILM in base ai risultati citologici 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. Lo studio NILM è stato progettato a supporto della richiesta di screening aggiuntiva per le donne di età pari o superiore a 30 anni, in quanto le donne in questa fascia di età con risultati citologici più rilevanti rispetto al risultato ASC-US devono procedere alla colposcopia indipendentemente dal loro stato di infezione da HPV.³⁹

Sono state arruolate donne provenienti da 18 centri clinici, principalmente cliniche di ostetricia e ginecologia, con un'ampia distribuzione geografica e una popolazione variegata. Le donne risultate idonee sono state assegnate allo studio ASC-US o allo studio NILM in base al loro campione di riferimento per citologia in fase liquida ThinPrep. Al basale, i campioni di riferimento residui di donne partecipanti allo studio ASC-US e allo studio NILM sono stati inizialmente analizzati sia con l'Aptima HPV Assay sul Tigris DTS System sia con un test per il DNA dell'HPV disponibile in commercio. I campioni sono stati quindi archiviati e conservati a -70 °C fino a quando non sono stati analizzati con l'Aptima HPV Assay sul Panther System.

Nello studio CLEAR al basale tutte le donne inserite nello studio ASC-US sono state sottoposte a colposcopia, indipendentemente dai risultati del test dell'HPV. Sono stati effettuati due tipi di prelievo: una biopsia con raschiamento endocervicale (Endocervical Curettage, ECC) e una biopsia con puntura cervicale (1 biopsia da ciascuno dei 4 quadranti). Se la lesione era visibile, la biopsia è stata eseguita con puntura (metodo diretto, 1 biopsia per lesione), mentre per i quadranti che non mostravano una lesione visibile la biopsia è stata eseguita alla giunzione squamocolumnare (metodo random).

Nello studio NILM, le donne positive al test Aptima HPV Assay sul sistema Tigris DTS e/o al test del DNA dell'HPV disponibile in commercio, come pure le donne selezionate in modo casuale e risultate negative a entrambi i test, sono state sottoposte a colposcopia per una valutazione preliminare. Le donne scelte a caso negative a entrambi i test sono state incluse nello studio per correggere il bias di verifica con stime prestazionali adattate generate utilizzando un metodo di imputazione multipla. 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 della malattia è stato determinato mediante un pannello di valutazione consensuale degli esami istologici, basato sulle valutazioni concordanti di almeno 2 patologi esperti. I patologi esperti sono stati tenuti all'oscuro dello stato di infezione da HPV della donna, nonché del loro stato citologico e delle rispettive diagnosi istologiche. In caso di disaccordo, i 3 patologi hanno dovuto esaminare i vetrini mediante un microscopio multitest 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. Al basale sono state determinate le prestazioni cliniche dell'Aptima HPV Assay sul Panther System per l'individuazione 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 patologia cervicale stabilito al basale. Sono state determinate anche le prestazioni cliniche del test per il DNA dell'HPV disponibile commercialmente per il confronto diretto con i risultati dell'Aptima HPV Assay.

CLEAR Trial – Studio CLEAR - Valutazione al follow-up

Le donne dello studio NILM di 14 centri clinici sono risultate idonee a partecipare alla fase di follow-up della durata di 3 anni dello studio se: i) si erano sottoposte a una visita con colposcopia al basale e non avevano un $\geq$ CIN2, oppure ii) non si erano sottoposte a una visita con colposcopia al basale. La fase di follow-up dello studio consisteva in visite a cadenza annuale. Durante queste visite, a ogni donna veniva prelevato un campione cervicale per citologia, e alcune donne venivano sottoposte a un test per HPV di tipo commerciale. Le donne con ASC-US o risultati citologici più severi durante il periodo di follow-up venivano sottoposte a una nuova colposcopia eseguita con le stesse procedure di biopsia ed esame istologico impiegate per la valutazione al basale dello studio NILM. Lo stato della patologia cervicale in occasione di una visita di follow-up era considerato "negativo" in base alla citologia NILM oppure, per le donne con risultati anormali nel test citologico, in base a risultati normali o a un pannello di valutazione consensuale degli esami istologici CIN1. Il periodo di follow-up veniva considerato completato per le donne con risultati $\geq$ CIN2 rilevati durante tale periodo e non dovevano sottoporsi a visite dopo l'individuazione di valori $\geq$ CIN2. Il follow-up veniva considerato completato per le donne per cui non veniva rilevato un valore $\geq$ CIN2 durante il periodo di follow-up ma che si erano sottoposte a visita nel 1° e/o nel 2° anno e nel 3° anno di follow-up.

L'obiettivo dello studio di follow-up era confrontare il rischio cumulativo di patologia cervicale a 3 anni nelle donne con risultati Aptima HPV Assay positivi al basale rispetto a quelle con risultati Aptima HPV Assay negativi. Lo stato della patologia cervicale a 3 anni è stato determinato come segue:

- Stato di patologia cervicale positivo ($\geq$ CIN2 e/o $\geq$ CIN3): donne con valori $\geq$ CIN2 rilevati al basale o durante il follow-up.
- Stato di patologia cervicale negativo ($<$ CIN2): donne che avevano completato il follow-up senza $\geq$ CIN2 e che non erano considerate soggette a uno stato di patologia cervicale "indeterminato".
- Stato di patologia cervicale indeterminato: donne che presentavano risultati del test citologico anormali durante il follow-up e che non disponevano di un successivo risultato del pannello di valutazione consensuale degli esami istologici, oppure donne con risultati citologici inadeguati alla loro ultima visita.
- Persa durante il follow-up: donne che non avevano completato il follow-up e non erano considerate soggette a uno stato di patologia cervicale "indeterminato".

Sono state valutate le prestazioni cliniche dell'Aptima HPV Assay su Panther System nell'individuazione di $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 in relazione a uno stato di patologia cervicale a 3 anni.

Prestazioni del Panther System Assay

Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: prestazioni cliniche dell'Aptima HPV Assay

Complessivamente, nello studio ASC-US sono state inserite 1.252 donne di età pari o superiore a 21 anni con risultati citologici ASC-US. Di queste, 294 sono state ritirate dallo studio. Le restanti 958 donne sono risultate idonee all'analisi sul Panther System. Per due donne sono mancati i campioni e 19 donne hanno avuto una diagnosi di malattia indeterminata; tutte sono state escluse dall'analisi. Le restanti 937 donne valutabili erano di età pari o superiore a 21 anni con risultati citologici ASC-US, risultati dell'Aptima HPV Assay sul Panther System e stato conclamato della malattia. Novantuno (91) donne hanno avuto una diagnosi di $\geq$ CIN2 e quarantuno (41) hanno avuto una diagnosi di $\geq$ CIN3. La prevalenza di diagnosi $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 nelle donne valutabili con risultati citologici ASC-US è stata rispettivamente del 9,7% e del 4,4%. I risultati dell'Aptima HPV Assay basati sulle diagnosi effettuate con il pannello di valutazione consensuale degli esami istologici sono illustrati nella Tabella 2.

Tabella 2: Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: risultati dell'Aptima HPV Assay ottenuti dalla diagnosi con pannello di valutazione consensuale degli esami istologici

Risultato dell'Aptima HPV Assay*	Test del DNA dell'HPV	Diagnosi con pannello di valutazione consensuale degli esami istologici						
		Indeterminato**	Normale	CIN1	CIN2	CIN3	Cancro	Totale
Positivo	Positivo	6	178	110	40	32	1	367
Positivo	Negativo	0	5	2	0	2	0	9
Positivo	Nessun risultato***	0	15	11	0	2	0	28
Negativo	Positivo	0	39	15	3	3	0	60
Negativo	Negativo	10	372	53	7	1	0	443
Negativo	Nessun risultato***	3	39	7	0	0	0	49
Totale		19	648	198	50	40	1****	956

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

**19 soggetti sono stati sottoposti a visita colposcopica ma non è stato possibile effettuare una diagnosi per i seguenti motivi: < 5 campioni di biopsia tutti con risultati istologici Normale/CIN1 (n = 15), nessuna biopsia prelevata (n = 3) e vetrini di biopsia smarriti (n = 1).

***Per 77 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 del campione citologico insufficiente.

****Un soggetto ha avuto una diagnosi di adenocarcinoma in situ (AIS).

Nella Tabella 3 sono riportate le stime delle prestazioni cliniche dell'Aptima HPV Assay, che comprendono la sensibilità, la specificità, il valore predittivo positivo (VPP) e il valore predittivo negativo (VPN) per l'individuazione di $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 basato sulla valutazione di tutte le biopsie e comprendente solo le biopsie dirette, nonché le stime relative al test per il DNA dell'HPV disponibile in commercio.

Tabella 3: Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: prestazioni dell'Aptima HPV Assay e di un test per il DNA dell'HPV per l'individuazione di $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3

		Aptima HPV Assay N = 937		Test del DNA dell'HPV N = 863*		
Prestazioni		Stima	(95% CI)	Stima	(95% CI)	
≥ CIN2	Tutte le biopsie					
	Sensibilità (%)	84,6 (77/91)	(75,8, 90,6)	88,8 (79/89)	(80,5, 93,8)	
	Specificità (%)	62,1 (525/846)	(58,7, 65,3)	55,8 (432/774)	(52,3, 59,3)	
	VPP (%)	19,3 (77/398)	(17,3, 21,2)	18,8 (79/421)	(17,0, 20,4)	
	VPN (%)	97,4 (525/539)	(96,0, 98,5)	97,7 (432/442)	(96,2, 98,8)	
	Prevalenza (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)		
	Biopsie dirette**					
	Sensibilità (%)	90,0 (54/60)	(79,9, 95,3)	93,2 (55/59)	(83,8, 97,3)	
	Specificità (%)	60,8 (531/874)	(57,5, 63,9)	54,5 (437/802)	(51,0, 57,9)	
	VPP (%)	13,6 (54/397)	(12,0, 15,0)	13,1 (55/420)	(11,7, 14,2)	
	VPN (%)	98,9 (531/537)	(97,8, 99,6)	99,1 (437/441)	(97,9, 99,7)	
	Prevalenza (%)	6,4 (60/934)		6,9 (59/861)		
	≥ CIN3	Tutte le biopsie				
		Sensibilità (%)	90,2 (37/41)	(77,5, 96,1)	92,3 (36/39)	(79,7, 97,3)
Specificità (%)		59,7 (535/896)	(56,5, 62,9)	53,3 (439/824)	(49,9, 56,7)	
VPP (%)		9,3 (37/398)	(8,0, 10,3)	8,6 (36/421)	(7,4, 9,4)	
VPN (%)		99,3 (535/539)	(98,3, 99,8)	99,3 (439/442)	(98,3, 99,8)	
Prevalenza (%)		4,4 (41/937)		4,5 (39/863)		
Biopsie dirette**						
Sensibilità (%)		93,1 (27/29)	(78,0, 98,1)	96,4 (27/28)	(82,3, 99,4)	
Specificità (%)		59,1 (535/906)	(55,8, 62,2)	52,8 (440/834)	(49,4, 56,1)	
VPP (%)		6,8 (27/398)	(5,7, 7,5)	6,4 (27/421)	(5,5, 7,0)	
VPN (%)		99,6 (535/537)	(98,8, 100)	99,8 (440/441)	(98,9, 100)	
Prevalenza (%)		3,1 (29/935)		3,2 (28/862)		

*Per 74 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 del campione citologico insufficiente.

**Il risultato istologico consensuale è stato ottenuto utilizzando solo i risultati delle biopsie dirette. Le donne con biopsia indiretta denotano una colposcopia normale e sono incluse in queste analisi come non affette dalla malattia (< CIN2 o < CIN3, a seconda dei casi). Quando sono state incluse solo biopsie dirette non sempre è stato raggiunto un consenso.

Quando sono state valutate tutte le biopsie, le stime della sensibilità clinica dell'Aptima HPV Assay e del test per il DNA dell'HPV disponibile in commercio, laddove sono disponibili entrambi i risultati del test per l'individuazione di $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3, sono risultate simili (le differenze nelle stime della sensibilità non sono state significative dal punto di vista statistico). Per $\geq$ CIN2 la differenza di sensibilità è stata del -4,5% (CI al 95%: -12,2%, 2,5%). Le stime della specificità clinica dell'Aptima HPV Assay per l'individuazione di $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 sono state maggiori rispetto a quelle del test per il DNA dell'HPV disponibile in commercio (le differenze nelle stime della specificità sono state significative dal punto di vista statistico). Per $\geq$ CIN2 la differenza di specificità è stata del 6,1% (CI al 95%: 4,2%, 8,2%). I VPN sono stati simili, ma per l'individuazione di $\geq$ CIN2 il VPP per l'Aptima HPV Assay è stato leggermente più alto rispetto al VPP per il test per il DNA dell'HPV disponibile in commercio (19,3% contro 18,8%).

Dei 91 casi di $\geq$ CIN2, 60 (65,9%) sono stati identificati con biopsie dirette e 31 (34,1%) sono stati identificati con biopsie random e/o biopsie ECC (ossia, biopsie indirette). Questi risultati possono essere confrontati con i risultati degli studi presenti in letteratura, dai quali si evince che dal 25% al 40% circa dei casi di $\geq$ CIN2 sono stati identificati solo con campioni biotici prelevati con metodi random e/o ECC.^{40,41} Utilizzando solo biopsie dirette per determinare lo stato della malattia (supponendo che le donne sottoposte a biopsia indiretta abbiano mostrato risultati istologici normali in quanto non erano presenti lesioni visibili), la prevalenza di $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 nello studio è stata rispettivamente del 6,4% e del 3,1%. Le stime della sensibilità clinica per l'individuazione di $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 sono state maggiori per entrambi i test utilizzando solo biopsie dirette rispetto alle stime calcolate utilizzando tutti i tipi di biopsie. Per entrambi i test, la specificità clinica ottenuta utilizzando solo biopsie dirette è stata simile alla specificità ottenuta con tutti i tipi di biopsie. Di conseguenza, quando sono state utilizzate solo biopsie dirette, la specificità dell'Aptima HPV Assay è stata significativamente più alta rispetto a quella del test per il DNA dell'HPV disponibile in commercio.

Le stime delle prestazioni cliniche dell'Aptima HPV Assay e del test per il DNA dell'HPV disponibile in commercio sono riportate per gruppo di età nella Tabella 4 e nella Tabella 5 (rispettivamente $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3, in base alla valutazione di tutte le biopsie).

Tabella 4: Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: prestazioni dell'Aptima HPV Assay e di un test per il DNA dell'HPV per l'individuazione di $\geq$ CIN2 per gruppo di età

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

*Per 74 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 del campione citologico insufficiente.

Tabella 5: Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: prestazioni dell'Aptima HPV Assay e di un test per il DNA dell'HPV per l'individuazione di $\geq$ CIN3 per gruppo di età

	Prestazioni	Aptima HPV Assay N = 937		Test del DNA dell'HPV N = 863*	
		Stima	(95% CI)	Stima	(95% CI)
Da 21 a 29 anni		N = 415		N = 389	
	Sensibilità (%)	96,3 (26/27)	(81,7, 99,3)	100 (25/25)	(86,7, 100)
	Specificità (%)	42,5 (165/388)	(37,7, 47,5)	33,0 (120/364)	(28,3, 38,0)
	VPP (%)	10,4 (26/249)	(9,0, 11,5)	9,3 (25/269)	(8,2, 10,0)
	VPN (%)	99,4 (165/166)	(97,2, 100)	100 (120/120)	(97,5, 100)
	Prevalenza (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
Da 30 a 39 anni		N = 261		N = 238	
	Sensibilità (%)	88,9 (8/9)	(56,5, 98,0)	77,8 (7/9)	(45,3, 93,7)
	Specificità (%)	64,3 (162/252)	(58,2, 69,9)	59,8 (137/229)	(53,4, 66,0)
	VPP (%)	8,2 (8/98)	(5,0, 10,1)	7,1 (7/99)	(4,0, 9,2)
	VPN (%)	99,4 (162/163)	(97,6, 100)	98,6 (137/139)	(96,4, 99,8)
	Prevalenza (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
$\geq$ 40 anni		N = 261		N = 236	
	Sensibilità (%)	60,0 (3/5)	(23,1, 88,2)	80,0 (4/5)	(37,6, 96,4)
	Specificità (%)	81,3 (208/256)	(76,0, 85,6)	78,8 (182/231)	(73,1, 83,6)
	VPP (%)	5,9 (3/51)	(1,6, 9,7)	7,5 (4/53)	(2,9, 10,7)
	VPN (%)	99,0 (208/210)	(98,0, 99,9)	99,5 (182/183)	(98,2, 100)
	Prevalenza (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

*Per 74 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 del campione citologico insufficiente.

Nella Tabella 6 sono riportati il rischio assoluto di malattia ($\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3, in base alla valutazione di tutte le biopsie) deducibile dai risultati dell'Aptima HPV Assay e il rischio relativo di malattia deducibile dai risultati positivi rispetto a quelli negativi dell'Aptima HPV Assay, nonché le stime relative al test per il DNA dell'HPV disponibile in commercio. Il rischio relativo di $\geq$ CIN2 è stato di 7,4 (CI al 95%: 4,3, 13,0), a indicare che una donna positiva all'Aptima HPV Assay aveva una probabilità di 7,4 volte di ottenere una diagnosi di $\geq$ CIN2 rispetto a una donna negativa all'Aptima HPV Assay. Il rischio relativo di $\geq$ CIN3 è stato di 12,5 (CI al 95%: 4,5, 34,9).

Tabella 6: Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: rischio assoluto e relativo di $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV Assay e di un test per il DNA dell'HPV

		Aptima HPV Assay N = 937		Test per il DNA dell'HPV N = 863*	
Risultati del test		Rischio assoluto (CI al 95%)	Rischio relativo (CI al 95%)	Rischio assoluto (CI al 95%)	Rischio relativo (CI al 95%)
≥ CIN2	Positivo	19,3 (77/398) (17,3, 21,2)	7,4 (4,3, 13,0)	18,8 (79/421) (17,0, 20,4)	8,3 (4,4, 15,8)
	Negativo	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)		2,3 (10/442) (1,2, 3,8)	
	Prevalenza (%)		9,7 (91/937)		10,3 (89/863)
≥ CIN3	Positivo	9,3 (37/398) (8,0, 10,3)	12,5 (4,5, 34,9)	8,6 (36/421) (7,4, 9,4)	12,6 (3,9, 40,6)
	Negativo	0,7 (4/539) (0,2, 1,7)		0,7 (3/442) (0,2, 1,7)	
	Prevalenza (%)		4,4 (41/937)		4,5 (39/863)

*Per 74 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 del campione citologico insufficiente.

Le stime del rischio assoluto e relativo della malattia ($\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3, in base alla valutazione di tutte le biopsie) per l'Aptima HPV Assay e per il test per il DNA dell'HPV disponibile in commercio sono riportate per gruppo di età nella Tabella 7.

Tabella 7: Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: rischio assoluto e relativo di $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV Assay e di un test per il DNA dell'HPV per gruppo di età

		Aptima HPV Assay N = 937		Test del DNA dell'HPV N = 863*			
Età	Risultati del test	Rischio assoluto (95% CI)	Rischio relativo (95% CI)	Rischio assoluto (95% CI)	Rischio relativo (95% CI)		
≥ CIN2			N = 415		N = 389		
	Da 21 a 29 anni	Positivo	21,7 (54/249) (19,3, 23,9)	5,1 (2,4, 11,0)	20,8 (56/269) (19,0, 22,5)	8,3 (2,7, 26,1)	
		Negativo	4,2 (7/166) (1,9, 7,7)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)		
	Prevalenza (%)		9,7 (61/415)		15,2 (59/389)		
			N = 261		N = 238		
	Da 30 a 39 anni	Positivo	17,3 (17/98) (13,1, 21,1)	9,4 (2,8, 31,3)	16,2 (16/99) (11,8, 19,8)	5,6 (1,9, 16,3)	
		Negativo	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)		
	Prevalenza (%)		7,7 (20/261)		8,4 (20/238)		
			N = 261		N = 236		
	≥ 40 anni	Positivo	11,8 (6/51) (5,6, 17,7)	6,2 (1,8, 21,1)	13,2 (7/53) (6,9, 18,7)	8,1 (2,2, 30,1)	
		Negativo	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)		1,6 (3/183) (0,4, 3,4)		
	Prevalenza (%)		3,8 (10/261)		4,2 (10/236)		
≥ CIN3			N = 415		N = 389		
	Da 21 a 29 anni	Positivo	10,4 (26/249) (9,0, 11,5)	17,3 (2,4, 127)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Non calcolabile	
		Negativo	0,6 (1/166) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)		
	Prevalenza (%)		6,5 (27/415)		6,4 (25/389)		
			N = 261		N = 238		
	Da 30 a 39 anni	Positivo	8,2 (8/98) (5,0, 10,1)	13,3 (1,7, 105)	7,1 (7/99) (4,0, 9,2)	4,9 (1,0, 23,2)	
		Negativo	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)		
	Prevalenza (%)		3,4 (9/261)		3,8 (9/238)		
			N = 261		N = 236		
	≥ 40 anni	Positivo	5,9 (3/51) (1,6, 9,7)	6,2 (1,1, 36,0)	7,5 (4/53) (2,9, 10,7)	13,8 (1,6, 121)	
		Negativo	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)		0,5 (1/183) (0,0, 1,8)		
	Prevalenza (%)		1,9 (5/261)		2,1 (5/236)		

*Per 74 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 del campione citologico insufficiente.

Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: prestazioni cliniche dell'Aptima HPV Assay con campioni per citologia in fase liquida ThinPrep

Complessivamente, nello studio NILM sono state inserite 11.644 donne con risultati citologici NILM, di cui 773 sono state ritirate dallo studio. Le restanti 10.871 donne sono risultate idonee all'analisi sul Panther System. Per undici donne sono mancati i campioni e queste sono state escluse dalla valutazione al basale dell'Aptima HPV Assay su Panther System. Le restanti 10.860 donne valutabili erano di età pari o superiore a 30 anni con risultati citologici NILM e risultati dell'Aptima HPV Assay sul Panther System. Delle 512 donne con risultati positivi all'Aptima HPV Assay sul Panther System, 284 sono state sottoposte a colposcopia al basale. Delle 10.348 donne con risultati negativi per l'Aptima HPV Assay, 580 sono state sottoposte a colposcopia. Venti (20) donne hanno avuto una diagnosi $\geq$ CIN2 e undici (11) una diagnosi $\geq$ CIN3; 798 donne hanno avuto una diagnosi istologica Normale/CIN1; 46 donne hanno avuto una diagnosi di stato indeterminato della malattia. I risultati dell'Aptima HPV Assay su Panther System basati sulle diagnosi preliminari effettuate con il pannello di valutazione consensuale degli esami istologici sono illustrati nella Tabella 8.

Tabella 8: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: risultati dell'Aptima HPV Assay e di un test per il DNA dell'HPV basati sulla diagnosi al basale con pannello di valutazione consensuale degli esami istologici

Risultato dell'Aptima HPV Assay*	Test del DNA dell'HPV	Diagnosi con pannello di valutazione consensuale degli esami istologici						
		Indeterminato**	Normale	CIN1	CIN2	CIN3	Cancro	Totale
Positivo	Positivo	11	211	12	4	7	2	247
Positivo	Negativo	2	19	0	0	0	1	22
Positivo	Nessun risultato***	2	12	1	0	0	0	15
Negativo	Positivo	10	170	7	2	1	0	190
Negativo	Negativo	20	353	9	2	0	0	384
Negativo	Nessun risultato***	1	4	0	1	0	0	6
Totale		46	769	29	9	8	3****	864

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

**46 soggetti sono stati sottoposti a visita colposcopica, ma non è stato possibile ottenere una diagnosi per i seguenti motivi: campioni biotici ritenuti inadeguati (n = 29), nessuna biopsia prelevata (n = 15) e vetrini di biopsia smarriti (n = 2).

***Per 21 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 del campione citologico insufficiente.

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

In totale, 10.042 donne hanno avuto una diagnosi di stato della malattia non verificato (incluso lo stato indeterminato) (Tabella 9). Poiché lo studio era stato progettato in modo tale da sottoporre a colposcopia solo donne scelte a caso con risultati negativi sia per l'Aptima HPV Assay sul Tigris DTS System che per il test per il DNA dell'HPV disponibile in commercio, in questo gruppo è stata ottenuta un'elevata percentuale di donne con stato della malattia non verificato (96,6%). 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. Sono state riportate sia le stime delle prestazioni adattate per il bias di verifica sia le stime delle prestazioni preliminari non adattate, basate sulle 818 donne con stato della malattia verificato.

Tabella 9: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: classificazione delle donne NILM valutabili in base ai risultati dell'Aptima HPV Assay e di un test per il DNA dell'HPV, stato della malattia ($\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3) e stato di verifica della malattia

Risultato dell'Aptima HPV 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
Panther System	Tigris DTS System			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	313	13	189	9	193	111 (35,5%)
Positivo	Positivo	Negativo	37	1	18	1	18	18 (48,6%)
Positivo	Positivo	Nessun risultato**	22	0	13	0	13	9 (40,9%)
Positivo	Negativo	Positivo	70	0	34	0	34	36 (51,4%)
Positivo	Negativo	Negativo	60	0	1	0	1	59 (98,3%)
Positivo	Negativo	Nessun risultato**	10	0	0	0	0	10 (100%)
Negativo	Positivo	Positivo	46	0	33	0	33	13 (28,3%)
Negativo	Positivo	Negativo	113	1	41	0	42	71 (62,8%)
Negativo	Positivo	Nessun risultato**	8	0	4	0	4	4 (50,0%)
Negativo	Negativo	Positivo	236	3	144	1	146	89 (37,7%)
Negativo	Negativo	Negativo	9.354	1	321	0	322	9.032 (96,6%)
Negativo	Negativo	Nessun risultato**	591	1	0	0	1	590 (99,8%)
Totale			10.860	20	798	11	807	10.042 (92,5%)

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

**Per 631 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 del campione citologico insufficiente.

La prevalenza adattata di diagnosi $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 nelle donne con risultati citologici NILM è stata rispettivamente dello 0,9% e dello 0,4%. Le stime adattate del rischio assoluto e relativo per l'individuazione di $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 al basale sono riportate nella Tabella 10. Il rischio relativo adattato di $\geq$ CIN2 è stato di 7,5 (CI al 95%: 2,1, 26,3), a indicare che una donna positiva all'Aptima HPV Assay ha una probabilità di 7,5 volte di ottenere una diagnosi di $\geq$ CIN2 rispetto a una donna negativa all'Aptima HPV Assay. Il rischio relativo adattato di $\geq$ CIN3 è stato di 24,9 (CI al 95%: 2,0, 307,0). Le stime non adattate del rischio assoluto e relativo per l'individuazione di $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 al basale sono mostrate complessivamente nella Tabella 11 e per gruppo di età nella Tabella 12.

Tabella 10: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rischio assoluto e relativo di $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV Assay e di un test per il DNA dell'HPV (stime adattate per il bias di verifica) al basale

Risultati del test	Aptima HPV Assay		Test del DNA dell'HPV	
	Rischio assoluto (CI al 95%)	Rischio relativo (CI al 95%)	Rischio assoluto (CI al 95%)	Rischio relativo (CI al 95%)
$\geq$ CIN2	Positivo	4,5 (2,7, 7,4)	3,7 (2,3, 6,1)	7,3 (1,6, 33,5)
	Negativo	0,6 (0,2, 1,9)	0,5 (0,1, 2,1)	
	Prevalenza (%)	0,9	0,9	
$\geq$ CIN3	Positivo	3,0 (1,6, 5,5)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,8)
	Negativo	0,1 (0,0, 1,7)	0,1 (0,0, 2,4)	
	Prevalenza (%)	0,4	0,4	

Tabella 11: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rischio assoluto e relativo di $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV Assay e di un test per il DNA dell'HPV (stime non adattate) al basale

Risultati del test	Aptima HPV Assay N = 818		Test del DNA dell'HPV N = 800*	
	Rischio assoluto (CI al 95%)	Rischio relativo (CI al 95%)	Rischio assoluto (CI al 95%)	Rischio relativo (CI al 95%)
$\geq$ CIN2	Positivo	5,2 (14/269) (3,5, 6,6)	3,8 (16/416) (2,9, 4,5)	4,9 (1,4, 16,8)
	Negativo	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)	0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Prevalenza (%)	2,4 (20/818)	2,4 (19/800)	
$\geq$ CIN3	Positivo	3,7 (10/269) (2,5, 4,3)	2,4 (10/416) (1,6, 2,7)	9,2 (1,2, 71,8)
	Negativo	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)	0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Prevalenza (%)	1,3 (11/818)	1,4 (11/800)	

*Per 18 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 del campione citologico insufficiente.

Tabella 12: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rischio assoluto e relativo di $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV Assay e di un test per il DNA dell'HPV per gruppo di età (stime non adattate) al basale

		Aptima HPV Assay N = 818		Test del DNA dell'HPV N = 800*		
Età	Risultati del test	Rischio assoluto (CI al 95%)	Rischio relativo (CI al 95%)	Rischio assoluto (CI al 95%)	Rischio relativo (CI al 95%)	
≥ CIN2	Da 30 a 39 anni	N = 383		N = 376		
		Positivo	4,6 (7/153) (2,5, 5,9)	5,3 (1,1, 25,0)	3,3 (7/215) (1,8, 4,1)	2,6 (0,6, 12,4)
		Negativo	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)		1,2 (2/161) (0,2, 3,2)	
		Prevalenza (%)	2,3 (9/383)		2,4 (9/376)	
	≥ 40 anni	N = 435		N = 424		
		Positivo	6,0 (7/116) (3,2, 8,5)	4,8 (1,4, 16,1)	4,5 (9/201) (2,9, 5,3)	10,0 (1,3, 78,1)
		Negativo	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)		0,4 (1/223) (0,0, 1,8)	
		Prevalenza (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
	≥ CIN3	Da 30 a 39 anni	N = 383		N = 376	
			Positivo	3,3 (5/153) (1,6, 4,1)	7,5 (0,9, 63,7)	2,3 (5/215) (1,1, 2,9)
Negativo			0,4 (1/230) (0,0, 1,6)	0,6 (1/161) (0,0, 2,2)		
Prevalenza (%)			1,6 (6/383)		1,6 (6/376)	
≥ 40 anni		N = 435		N = 424		
		Positivo	4,3 (5/116) (2,2, 5,1)	Non calcolabile	2,5 (5/201) (1,3, 2,8)	Non calcolabile
		Negativo	0,0 (0/319) (0,0, 0,8)		0,0 (0/223) (0,0, 1,1)	
		Prevalenza (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

*Per 18 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 del campione citologico insufficiente.

Nella Tabella 13 sono riportate le stime adattate delle prestazioni cliniche dell'Aptima HPV Assay, che comprendono la sensibilità, la specificità, il VPP e il VPN per l'individuazione di $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 al basale, nonché le stime relative al test per il DNA dell'HPV disponibile in commercio. Le stime non adattate delle prestazioni cliniche sono riportate nella Tabella 14. L'Aptima HPV Assay e il test per il DNA dell'HPV disponibile in commercio hanno mostrato una sensibilità simile, mentre la specificità è stata significativamente più alta per l'Aptima HPV Assay (CI al 95% non sovrapposti). Le stime dei valori predittivi dell'Aptima HPV Assay sono state clinicamente rilevanti e simili alle stime per il test per il DNA dell'HPV disponibile in commercio. I VPN sono stati simili, ma per l'individuazione di $\geq$ CIN2 il VPP per l'Aptima HPV Assay è stato leggermente più alto rispetto al VPP per il test per il DNA dell'HPV disponibile in commercio (4,5% contro 3,7%).

Tabella 13: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: prestazioni dell'Aptima HPV Assay e di un test per il DNA dell'HPV per l'individuazione di $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 (stime adattate per il bias di verifica) al basale

Prestazioni	Aptima HPV Assay		Test del DNA dell'HPV	
	Stima	(95% CI)	Stima	(95% CI)
Sensibilità (%)	28,4	(4,9, 51,8)	35,4	(3,8, 66,9)
Specificità (%)	95,5	(95,1, 95,9)	93,7	(93,2, 94,2)
$\geq$ CIN2				
VPP (%)	4,5	(2,7, 7,4)	3,7	(2,3, 6,1)
VPN (%)	99,4	(98,1, 99,8)	99,5	(97,9, 99,9)
Prevalenza (%)	0,9 (0,0, 1,9)		0,9 (0,0, 1,9)	
Sensibilità (%)	54,0	(3,6, 100)	56,4	(0,4, 100)
Specificità (%)	95,4	(95,0, 95,8)	93,6	(93,1, 94,1)
$\geq$ CIN3				
VPP (%)	3,0	(1,6, 5,5)	2,3	(1,3, 4,1)
VPN (%)	99,9	(98,3, 100)	99,9	(97,6, 100)
Prevalenza (%)	0,4 (0,0, 1,2)		0,4 (0,0, 1,3)	

Tabella 14: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: prestazioni dell'Aptima HPV Assay e di un test per il DNA dell'HPV per l'individuazione di $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 (stime non adattate) al basale

Prestazioni	Aptima HPV Assay N = 818		Test del DNA dell'HPV N = 800*	
	Stima	(95% CI)	Stima	(95% CI)
$\geq$ CIN2	Sensibilità (%)	70,0 (14/20)	84,2 (16/19)	(62,4, 94,5)
	Specificità (%)	68,0 (543/798)	48,8 (381/781)	(45,3, 52,3)
	VPP (%)	5,2 (14/269)	3,8 (16/416)	(2,9, 4,5)
	VPN (%)	98,9 (543/549)	99,2 (381/384)	(98,1, 99,8)
	Prevalenza (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)
$\geq$ CIN3	Sensibilità (%)	90,9 (10/11)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)
	Specificità (%)	67,9 (548/807)	48,5 (383/789)	(45,1, 52,0)
	VPP (%)	3,7 (10/269)	2,4 (10/416)	(1,6, 2,7)
	VPN (%)	99,8 (548/549)	99,7 (383/384)	(98,9, 100)
	Prevalenza (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)

*Per 18 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 del campione citologico insufficiente.

Il confronto diretto tra l'Aptima HPV Assay nel sistema Panther e il test per il DNA dell'HPV disponibile in commercio dimostra una sensibilità simile e una specificità migliorata significativa dal punto di vista statistico dell'Aptima HPV Assay rispetto al test per il DNA dell'HPV disponibile in commercio per l'individuazione di $\geq$ CIN2, come mostrato dai rapporti delle percentuali dei veri positivi e dei falsi positivi (rispettivamente Tabella 15 e Tabella 16).

Tabella 15: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rapporto delle percentuali dei veri positivi (Aptima HPV Assay/test per il DNA dell'HPV) per le donne con $\geq$ CIN2 (stime non adattate) al basale

	Test del DNA dell'HPV		Totale
	Positivo	Negativo	
Aptima HPV Assay	Positivo	13	14 (73,7%)
	Negativo	3	5
	Totale	16 (84,2%)	19
Rapporto delle percentuali dei veri positivi = 0,88 (14/16) (CI al 95%: 0,65, 1,10)			

Tabella 16: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rapporto delle percentuali dei falsi positivi (Aptima HPV Assay/test per il DNA dell'HPV) per le donne con $<$ CIN2 (stime non adattate)

	Test del DNA dell'HPV		Totale
	Positivo	Negativo	
Aptima HPV Assay	Positivo	223	242 (31,0%)
	Negativo	177	539
	Totale	400 (51,2%)	781
Rapporto delle percentuali dei falsi positivi = 0,61 (242/400) (CI al 95%: 0,55, 0,66)			

Popolazione NILM di età uguale o superiore a 30 anni: prestazioni cliniche dell'Aptima HPV Assay su Panther System dopo 3 anni di follow-up

Vi sono state 10.843 donne di età uguale o superiore a 30 anni con risultati al basale validi di citologia NILM e Aptima HPV Assay su Panther System che sono risultate idonee per la fase di follow-up. Delle donne senza $\geq$ CIN2, il 67,0% (7.247/10.823) si è sottoposta a una visita di follow-up con Pap test del 1° anno, il 60,3% (6.517/10.814) a quella del 2° anno e il 58,7% (6.339/10.807) a quella del 3° anno. Complessivamente, il 58,8% (6.375/10.843) delle donne ha completato lo studio (con valori al basale o durante il follow-up $\geq$ CIN2, e/o visite richieste completate).

Delle 10.843 donne valutabili, 511 (il 4,7%) presentava risultati al basale positivi all'Aptima HPV Assay su Panther System. Tra queste 511 donne, a 255 (il 49,9%) è stato diagnosticato uno stato della patologia a 3 anni positivo o negativo in base ai risultati citologici o della colposcopia/biopsia. Le rimanenti 10.332 donne hanno avuto risultati al basale negativi all'Aptima HPV Assay su Panther System. Tra queste 10.332 donne, a 5.946 (57,5%) è stato diagnosticato uno stato della patologia a 3 anni positivo o negativo. Tra le 6.201 donne con

stato della patologia a 3 anni, a 47 è stato rilevato un valore $\geq$ CIN2, comprese 23 con $\geq$ CIN3; 6.154 donne hanno avuto un valore normale/CIN1 dal pannello di valutazione consensuale degli esami istologici. I risultati al basale dell'Aptima HPV Assay su Panther System e del test HPV DNA commerciale e lo stato della patologia a 3 anni (compresa la valutazione al basale e al follow-up) del pannello di valutazione consensuale degli esami istologici sono illustrati nella Tabella 17.

Tabella 17: popolazione NILM di età uguale o superiore a 30 anni: classificazione delle donne idonee alla fase di follow-up in base ai risultati al basale dell'Aptima HPV Assay, del test HPV DNA e allo stato della patologia ($\geq$ CIN2, $\geq$ CIN3, Non verificato) stabilito al basale e al follow-up

Risultato dell'Aptima HPV Assay	Test per il DNA dell'HPV	Totale donne	Stato di patologia verificato: $\geq$ CIN2		Stato di patologia verificato: $\geq$ CIN3		Stato di patologia non verificato	
			Donne malate ($\geq$ CIN2)	Donne non malate ($<$ CIN2)	Donne malate ($\geq$ CIN3)	Donne non malate ($\geq$ CIN3)	Perse durante il follow-up	Indeterminato*
Positivo	Positivo	382	23	171	16	178	167	21
Positivo	Negativo	97	1	48	1	48	44	4
Positivo	Nessun risultato**	32	2	10	1	11	17	3
Negativo	Positivo	281	5	129	2	132	130	17
Negativo	Negativo	9,452	15	5,476	3	5,488	3,756	205
Negativo	Nessun risultato**	599	1	320	0	321	264	14
To tale		10,843	47	6,154	23	6,178	4,378	264

*Donne che presentavano risultati del test citologico anormali al follow-up e che non disponevano di un successivo risultato del pannello di valutazione consensuale degli esami istologici, oltre a donne con risultati citologici inadeguati alla loro ultima visita. 174 donne con stato della patologia indeterminato hanno completato il follow-up secondo il protocollo.

**631 donne con risultati all'Aptima HPV Assay non hanno avuto risultati al test HPV DNA principalmente a causa di un insufficiente volume di campione per la citologia.

Il rischio cumulativo di malattia a 3 anni ($\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3) si basa sulla valutazione di Kaplan-Meier (analisi della tabella di sopravvivenza) e comprende le patologie rilevate al basale o durante il follow-up. Le donne che hanno avuto qualche indicazione di patologia (ASC-US o risultati citologici più severi) ma senza un risultato del pannello di valutazione consensuale degli esami istologici sono state incluse nell'analisi utilizzando un metodo di inserimento multiplo per prevedere il numero di donne affette da una patologia che sarebbero state identificate qualora si fossero sottoposte a una colposcopia.

Le stime di rischio assoluto e cumulativo a 3 anni per $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 sono illustrate nella Tabella 18.

Tabella 18: Popolazione NILM di età uguale o superiore a 30 anni: rischi cumulativi e assoluti* a 3 anni per $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 in funzione del risultato al basale di Aptima HPV Assay e del test HPV DNA

	Risultato dell'assay	Aptima HPV Assay		Test per il DNA dell'HPV	
		Rischio Sassoluto (95% CI)	Rischio relativo (95% CI)	Rischio assoluto (95% CI)	Rischio relativo (95% CI)
≥CIN2	Positivo	7.90 (5.50, 11.27)	24.45 (13.85, 43.15)	6.43 (4.50, 9.14)	22.71 (12.20, 42.30)
	Negativo	0.32 (0.21, 0.51)		0.28 (0.17, 0.47)	
	Prelavenza (%)		0.68	0.68	
≥CIN3	Positivo	5.23 (3.34, 8.13)	57.11 (21.09, 154.62)	4.14 (2.62, 6.52)	51.34 (17.74, 148.58)
	Negativo	0.09 (0.04, 0.23)		0.08 (0.03, 0.22)	
	Prelavenza (%)		0.34	0.35	

*I rischi cumulativi a 3 anni adattati per altri possibili bias sono risultati simili ai rischi riportati in questa tabella. A causa delle differenze previste nei rischi al 1° e 2° anno per i due gruppi di donne dello studio di follow-up (quelle sottoposte a colposcopia al basale e quelle non sottoposte a colposcopia al basale), è stato riportato solo il rischio cumulativo a 3 anni per i gruppi combinati.

La prevalenza cumulativa a 3 anni di $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 nelle donne con citologia NILM al basale è stata rispettivamente dello 0,68% e dell'0,34%. Il rischio relativo di $\geq$ CIN2 è risultato pari a 24,45 (95% CI 13,85, 43,15), a indicare che un donna con Aptima HPV Assay positivo su Panther System ha 24,45 volte più probabilità di avere una $\geq$ CIN2 rispetto a una donna con Aptima HPV Assay negativo. Il rischio relativo per $\geq$ CIN3 è risultato pari a 57,11 (95% CI: 21,09, 154,62).

Prestazioni cliniche dell'Aptima HPV Assay con campioni per citologia in fase liquida SurePath

I campioni per citologia in fase liquida SurePath sono stati raccolti da donne canadesi ($n = 1350$) a cui era stato richiesto un follow-up a causa di uno o più Pap test anormali, un'infezione da HPV o 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. Da ciascun campione è stata tolta un'aliquota a parte (1 ml) da valutare con un test per l'HPV basato sulla PCR disponibile in commercio. La sensibilità clinica per l'individuazione dello stato patologico, definito come risultato istologico $\geq$ CIN3, è stata calcolata per l'Aptima HPV Assay e per il test per l'HPV basato sulla PCR, come mostrato nella Tabella 19, con valori predittivi positivi e negativi.

Tabella 19: Prestazioni per l'individuazione di $\geq$ CIN3 dell'Aptima HPV Assay e di un test per l'HPV basato sulla PCR

Prestazioni	Aptima HPV Assay N = 1326		Test per l'HPV basato sulla PCR N = 1351	
	Stima	(95% CI)	Stima	(95% CI)
Sensibilità (%)	89,6 (69/77)	(80,8 - 94,6)	94,8 (73/77)	(87,4 - 98,0)
Specificità (%)	57,3 (716/1249)	(54,6 - 60,0)	52,0 (663/1274)	(49,3 - 54,8)
VPP (%)	11,5 (69/602)	(10,3 - 12,4)	10,7 (73/684)	(9,8 - 11,4)
VPN (%)	98,9 (716/724)	(98,0 - 99,5)	99,4 (663/667)	(98,6 - 99,8)
Prevalenza (%)	5,8 (77/1326)		5,7 (77/1351)	

Prestazioni del test Aptima HPV Assay con campioni prelevati mediante il kit di raccolta e trasporto dei campioni cervicali

È stata eseguita una raccolta abbinata di campioni per citologia in fase liquida ThinPrep e campioni con il kit CSCT Aptima, da 735 soggetti. Un millilitro (1,0 ml) di ciascun campione per citologia in fase liquida ThinPrep è stato diluito in 2,9 ml di terreni di trasporto del campione Aptima, ed un singolo replicato è stato analizzato con il test Aptima HPV Assay sul sistema Tigris DTS. Un singolo replicato di ciascun campione CSCT è stato anch'esso analizzato con il test Aptima HPV Assay. È stata determinata la concordanza percentuale del test Aptima HPV Assay tra il campione per citologia in fase liquida ThinPrep e il campione CSCT; i risultati sono illustrati nella Tabella 20.

La percentuale di concordanza positiva è stata del 95,9% (IC al 95%: 92,6-97,8); la percentuale di concordanza negativa è stata del 95,5% (IC al 95%: 93,3-97,0); la concordanza complessiva è stata del 95,6% (IC al 95%: 93,9-96,9). È stata osservata una forte correlazione fra i campioni per citologia in fase liquida e i campioni del kit di trasporto ($\kappa = 0,90$).

Tabella 20: Concordanza complessiva dei risultati del test Aptima HPV Assay da campioni per citologia in fase liquida ThinPrep e campioni del kit di raccolta e trasporto di campioni cervicali Aptima, analizzati sul sistema Tigris DTS

		Campioni per citologia in fase liquida ThinPrep		
		Positivo	Negativo	Totale
Campioni del kit CSCT Aptima	Positivo	234	22	256
	Negativo	10	469	479
	Totale	244	491	735

Concordanza positiva = 95,9% (92,6-97,8)

Concordanza negativa = 95,5% (93,3-97,0)

Concordanza complessiva = 95,6% (93,9-96,9)

Coefficiente kappa = 0,90

Campioni clinici positivi per l'HPV ad alto rischio e negativi per l'HPV ad alto rischio raccolti da popolazioni di screening (visita di routine) e di riferimento (visita colposcopica) con il kit CSCT Aptima sono stati analizzati con l'Aptima HPV Assay sul Panther System e sul Tigris DTS System utilizzando due lotti di reagenti. La concordanza tra il Panther System e il Tigris DTS System per i campioni CSCT è riportata nella Tabella 21.

Per i campioni CSCT, la concordanza complessiva tra il Panther System e il Tigris DTS System è stata > 98%, come illustrato nella Tabella 21. Dei 632 campioni clinici analizzati, 69 erano CIN2+ e 38 erano CIN3+. La sensibilità dell'Aptima HPV Assay per l'individuazione di CIN2+ era 97,1% (intervallo di confidenza del 95%: 90,0%-99,2%) sul Panther System e 98,6% (intervallo di confidenza del 95%: 92,2-99,7) sul Tigris DTS System. La sensibilità per l'individuazione di CIN3+ era 100% (intervallo di confidenza: 90,8%-100%) su entrambi i sistemi Panther System e Tigris DTS System.

Tabella 21: Concordanza tra i risultati dell'Aptima HPV Assay ottenuti da campioni CSCT analizzati sul Tigris DTS System e Sul Panther System

		Tigris DTS System		
		Positivo	Negativo	Totale
Panther System	Positivo	490	3	493
	Negativo	9	130	139
	Totale	499	133	632

Concordanza complessiva = 98,1% (intervallo di confidenza del 96,7-98,9)

Concordanza positiva = 98,2% (intervallo di confidenza del 96,6-99,0)

Concordanza negativa = 97,7% (intervallo di confidenza del 93,6-99,2)

Prestazioni cliniche dell'Aptima HPV Assay con campioni biologici di tampone multitest Aptima

Le prestazioni cliniche per i campioni vaginali raccolti con l'Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit sono state dimostrate in uno studio condotto su donne di età compresa tra 24 e 64 anni in Inghilterra.⁴⁵ Le donne idonee (che soddisfacevano i criteri di inclusione e presentavano risultati HPV validi, sia raccolti dal medico che dalla paziente) includevano quelle indirizzate alla colposcopia per ulteriori indagini a seguito di un risultato positivo o inadeguato del test HPV raccolto dal medico durante lo screening primario o un richiamo precoce al massimo 8 settimane (≤ 56 giorni) prima della colposcopia ($n=78$), e quelle di età compresa tra 24 e 64 anni per le quali era previsto o era già scaduto lo screening di routine per il cancro cervicale ($n=903$).

Da ciascuna partecipante allo studio sono stati prelevati un campione raccolto dalla paziente e uno raccolto dal medico. I campioni vaginali raccolti utilizzando l'Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit sono stati preriscaldati a 90 °C per 75 minuti e lasciati raffreddare prima dell'elaborazione sul Panther System.

La sensibilità relativa condizionata per i campioni prelevati autonomamente è stata definita come la proporzione di casi CIN2+ rilevati tramite un campione prelevato dal medico risultato positivo che ha restituito un risultato positivo al test HPV anche su un campione prelevato autonomamente ottenuto durante una visita di colposcopia di routine.

Per la specificità relativa condizionata nelle donne senza CIN2+, il numero di donne in ambito di screening primario con un risultato negativo del test sul campione prelevato autonomamente ottenuto durante una visita di screening di routine è stato confrontato con il numero di donne con un risultato negativo del test sul campione corrispondente prelevato dal medico.

La sensibilità relativa condizionata stimata per la neoplasia intraepiteliale cervicale di alto grado (CIN2+) era 0,92 (0,86-0,96) e per la CIN3+ era 1 (0,92-1,00). La stima della specificità relativa per la CIN2+ era 0,87 (0,85-0,89).

Limite di rilevamento (LoD) nei campioni cervicali al cutoff clinico

Il limite di rilevamento (Limit of Detection, LoD) al cutoff clinico è la concentrazione di RNA dell'HPV che fornisce un risultato positivo (al di sopra del cutoff clinico) nel 95% dei casi. Il LoD del test Aptima HPV Assay è stato determinato analizzando pannelli di diluizione dei trascritti in vitro (IVT) per tutti i 14 genotipi ad alto rischio e per 4 linee di cellule HPV-infette: SiHa, HeLa, MS751 e ME180 (ATCC, Manassas, Virginia). Per i pannelli IVT, prima di procedere all'analisi il terreno di trasporto del campione è stato addizionato con IVT a varie concentrazioni e successivamente diluito con i singoli campioni negativi per citologia in fase liquida ThinPrep. Per i pannelli di cellule infette da HPV, prima di procedere all'analisi i pool di campioni per citologia in fase liquida ThinPrep negativi all'HPV sono stati addizionati con cellule infette da HPV a varie concentrazioni e successivamente diluiti con il terreno di trasporto del campione. Trenta replicati di ciascun livello di copie sono stati analizzati con ciascuno di due lotti di reagenti, per un totale di 60 replicati. L'analisi è stata eseguita nell'arco di 17 giorni, con 1-12 sessioni analitiche al giorno e 5 replicati di un dato genotipo e di una data concentrazione analizzati in ogni sessione analitica. Il limite di rilevamento del 95% è stato calcolato dall'analisi della regressione probit dei risultati di positività per ciascun pannello di diluizione.

I risultati dell'analisi probit, come riportato nella Tabella 22, mostrano che i limiti di rilevamento del 95% per l'HPV di tipo 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59 e 68 sono stati inferiori a 100 copie/reazione e i limiti di rilevamento del 95% per i tipi 52, 58 e 66 sono stati compresi tra 100 e 500 copie/reazione. I limiti di rilevamento del 95% per le quattro linee cellulari analizzate sono stati inferiori a 1 cellula/reazione.

Tabella 22: Limite di rilevamento nei campioni cervicali raccolti dal medico al cutoff clinico

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

*Copie per reazione per gli IVT e cellule per reazione per le linee cellulari

Limite di rilevamento (LoD) nei campioni vaginali al cutoff clinico

Il LoD del test Aptima HPV Assay è stato determinato analizzando pannelli di diluizione di IVT per tutti i 14 genotipi ad alto rischio e per 4 linee di cellule HPV-infette (SiHa, HeLa, ME180 e MS751) nella matrice in pool di campioni vaginali prelevati autonomamente negativi per HPV. Ciascun pool negativo della matrice di campioni di tampone vaginale è stato addizionato con concentrazioni target inferiori, pari e superiori al LoD. Venti replicati di ciascuna concentrazione sono stati analizzati con ciascuno dei 2 lotti di reagenti utilizzando 2 sistemi Panther/Panther Fusion. Il LoD al cutoff clinico è stato definito come la concentrazione di RNA dell'HPV che ha dato un risultato positivo almeno nel 95% dei casi.

La Tabella 23 elenca il LoD stabilito dal lotto di reagenti che produce il LoD più conservativo (più alto) con un intervallo di confidenza bilaterale al 95%. I genotipi HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 66 e 68 presentavano limiti di rilevamento al 95% inferiori a 100 copie/reazione; i tipi HPV 52, 56, 58 e 59 presentavano limiti di rilevamento al 95% compresi tra 100 e 600 copie/reazione. Le 4 linee di cellule hanno un limite di rilevamento del 95% pari o inferiore a 1 cellula/reazione.

Tabella 23: Limite di rilevamento nei campioni vaginali prelevati autonomamente al cutoff clinico

Target	Limite di rilevamento*	95% CI
HPV 16	50	76,4% - 99,1%
HPV 18	75	83,9% - 100%
HPV 31	30	76,4% - 99,1%
HPV 33	30	76,4% - 99,1%
HPV 35	5	76,4% - 99,1%
HPV 39	5	83,9% - 100%
HPV 45	30	76,4% - 99,1%
HPV 51	30	76,4% - 99,1%
HPV 52	600	76,4% - 99,1%
HPV 56	100	83,9% - 100%
HPV 58	100	83,9% - 100%
HPV 59	100	76,4% - 99,1%
HPV 66	50	76,4% - 99,1%
HPV 68	10	76,4% - 99,1%
SiHa	1	83,9% - 100%
HeLa	0,2	76,4% - 99,1%
ME180	0,03	83,9% - 100%
MS751	0,1	76,4% - 99,1%

*Copie per reazione per gli IVT e cellule per reazione per le linee cellulari

Precisione del test

La precisione dell'Aptima HPV Assay è stata valutata in due studi utilizzando lo stesso pannello da 20 elementi. Lo studio 1 è stato condotto in 3 centri, 2 esterni e 1 interno, e lo studio 2 è stato condotto internamente. Il pannello comprendeva 13 elementi positivi all'HPV con concentrazioni pari o superiori al limite di rilevamento del test (positività attesa: $\geq 95\%$), 3 elementi positivi all'HPV 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 sono stati preparati aggiungendo trascritti di RNA in vitro (IVT) alla Soluzione PreservCyt diluita con terreno di trasporto del campione (Specimen Transport Medium, STM), oppure cellule in coltura infette da HPV (SiHa, HeLa e MS751; ATCC, Manassas, Virginia) in pool di campioni negativi per citologia in fase liquida ThinPrep diluiti con STM. Gli elementi del pannello negativi all'HPV sono stati preparati con Soluzione PreservCyt o con pool di campioni negativi per citologia in fase liquida ThinPrep diluiti con 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 Assay al giorno (1 con ciascun lotto di reagenti) nell'arco di 3 giorni. 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 liste di lavoro 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 nella Tabella 24a (elementi del pannello con risultati positivi attesi) e nella Tabella 24b (elementi del pannello con risultati negativi attesi), insieme a un riepilogo della concordanza con i risultati attesi e i valori per S/CO analita ai percentili 2,5°, 50° e 97,5° della distribuzione del S/CO. La variabilità del S/CO analita per gli elementi del pannello con risultati positivi attesi è illustrata nella Tabella 25 per lo studio 1 e nella Tabella 26 per lo studio 2.

Tabella 24a: Studio di precisione 1 e 2 dell'Aptima HPV Assay: descrizione del pannello, concordanza positiva e distribuzione percentile dei valori dell'S/CO dell'analita per gli elementi del pannello con risultati positivi attesi

Descrizione pannello (copie o cellule/reazione)	Studio 1 (3 centri di analisi)				Studio 2 (1 centro di analisi)			
	% di concordanza positiva (IC al 95%)	S/CO analita Percentile			% di concordanza positiva (IC al 95%)	S/CO analita Percentile		
		2,5°	50°	97,5°		2,5°	50°	97,5°
Campione clinico 1 HPV alto positivo	100 (107/107) (96,5, 100)	21,16	29,64	33,63	100 (161/161) (97,7, 100)	22,50	26,84	30,67
Campione clinico 2 HPV alto positivo	100 (107/107) (96,5, 100)	25,98	29,77	36,03	100 (162/162) (97,7, 100)	25,00	28,61	33,99
IVT HPV 16 (1830 copie)	100 (107/107) (96,5, 100)	10,45	11,18	12,40	100 (161/161) (97,1, 100)	10,40	11,07	11,75
IVT HPV 18 (1550 copie)	100 (107/107) (96,5, 100)	13,09	14,55	18,08	100 (162/162) (97,7, 100)	11,26	13,47	15,63
Campione clinico 1 HPV basso positivo	94,4 (101/107) (88,3, 97,4)	0,00	9,93	11,03	89,5 (145/162) (83,3, 93,3)	0,00	9,53	10,95
Campione clinico 2 HPV basso positivo	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	0,00	7,30	16,63	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)	0,00	7,56	19,67
Campione clinico 3 HPV basso positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	2,80	10,19	17,08	97,5 (157/161) (93,8, 99,0)	1,14	9,53	15,38
Campione clinico 4 HPV basso positivo	90,7 (98/108) (83,8, 94,9)	0,00	4,48	11,16	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)	0,00	4,66	12,00
IVT HPV 16 (183 copie)	100 (102/102) (96,4, 100)	10,03	11,14	11,97	100 (162/162) (97,7, 100)	10,24	11,05	11,85
IVT HPV 18 (155 copie)	100 (108/108) (96,6, 100)	4,87	12,01	15,21	100 (159/159) (97,6, 100)	7,82	11,59	13,84
Cellule MS751 (0,63 cellule)	100 (108/108) (96,6, 100)	5,90	10,99	14,00	100 (162/162) (97,7, 100)	5,61	10,14	12,26
Cellule HeLa (0,35 cellule)	100 (108/108) (96,6, 100)	1,43	6,19	13,28	100 (162/162) (97,7, 100)	3,24	7,88	12,58
Cellule SiHa (0,90 cellule)*	87,9 (94/107) (80,3, 92,8)	0,00	9,80	11,04	89,5 (145/162) (83,8, 93,3)	0,00	9,19	10,94

IVT = trascritto in vitro

*% di concordanza positiva attesa ~95%; il valore inferiore osservato è probabilmente dovuto alla variabilità di produzione dell'elemento del pannello.

Tabella 24b: Studio di precisione 1 e 2 dell'Aptima HPV Assay: descrizione del pannello, concordanza negativa e distribuzione percentile dei valori dell'S/CO dell'analita per gli elementi del pannello con risultati negativi attesi

Descrizione pannello (copie o cellule/reazione)	Studio 1 (3 centri di analisi)				Studio 2 (1 centro di analisi)			
	% di concordanza negativa (IC al 95%)	S/CO analita Percentile			% di concordanza negativa (IC al 95%)	S/CO analita Percentile		
		2,5°	50°	97,5°		2,5°	50°	97,5°
Cellule MS751 (0,005 cellule)	87,0 (94/108) (79,4, 92,1)	0,00	0,00	4,37	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)	0,00	0,00	2,25
Cellule SiHa (0,008 cellule)	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	0,00	0,00	1,53	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)	0,00	0,00	7,56
Cellule HeLa (0,02 cellule)	70,4 (76/108) (61,2, 78,2)	0,00	0,00	3,95	67,3 (109/162) (59,8, 74,0)	0,00	0,12	6,35
Campione clinico 1 negativo all'HPV	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	0,00	0,00	0,33	100 (162/162) (97,7, 100)	0,00	0,00	0,07
Campione clinico 2 negativo all'HPV	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	0,00	0,00	1,21	100 (162/162) (97,7, 100)	0,00	0,00	0,05
Soluzione PreservCyt 1	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	0,00	0,00	0,15	100 (162/162) (97,7, 100)	0,00	0,00	0,06
Soluzione PreservCyt 2	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	0,00	0,00	0,22	100 (161/161) (97,7, 100)	0,00	0,00	0,09

Tabella 25: Studio di precisione 1 dell'Aptima HPV Assay: variabilità del segnale per gli elementi del pannello con risultati positivi attesi

Descrizione del pannello (copie o cellule/reazione)	n	S/CO medio	Tra gli strumenti		Tra gli operatori		Tra i lotti		Tra le liste di lavoro		All'interno delle liste di lavoro		Totale	
			DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
Campione clinico 1 positivo alto per HPV	107*	29,34	0,00	0,0	0,00	0,0	1,43	4,9	1,87	6,4	1,49	5,1	2,79	9,5
Campione clinico 2 positivo alto per HPV	107*	30,09	0,55	1,8	0,00	0,0	1,06	3,5	0,73	2,4	2,21	7,3	2,61	8,7
IVT HPV 16 (1.830 copie)	107*	11,20	0,09	0,8	0,16	1,4	0,03	0,3	0,14	1,3	0,46	4,1	0,52	4,6
IVT HPV 18 (1.550 copie)	107*	14,89	0,18	1,2	0,00	0,0	0,20	1,3	0,14	0,9	1,53	10,3	1,56	10,5
Campione clinico 1 positivo basso per HPV	107*	8,24	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,23	39,2	3,23	39,2
Campione clinico 2 positivo basso per HPV	108	7,07	0,00	0,0	0,41	5,8	0,00	0,0	0,00	0,0	4,57	64,7	4,59	65,0
Campione clinico 3 positivo basso per HPV	108	10,23	0,26	2,5	0,00	0,0	0,00	0,0	1,32	12,9	3,23	31,6	3,49	34,2
Campione clinico 4 positivo basso per HPV	108	4,68	0,50	10,7	0,20	4,2	0,00	0,0	0,99	21,1	3,02	64,6	3,22	68,9
IVT HPV 16 (183 copie)	102*	11,09	0,08	0,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	2,3	0,54	4,9	0,61	5,5
IVT HPV 18 (155 copie)	108	11,78	0,00	0,0	0,43	3,7	0,00	0,0	1,12	9,5	1,97	16,7	2,30	19,6
Cellule MS751 (0,63 cellule)	108	10,73	0,00	0,0	0,59	5,5	0,72	6,7	0,82	7,6	1,86	17,3	2,23	20,8
Cellule HeLa (0,35 cellule)	108	6,78	0,00	0,0	0,56	8,3	0,00	0,0	1,23	18,2	3,08	45,5	3,37	49,7
Cellule SiHa (0,90 cellule)	107*	7,74	0,37	4,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,85	49,8	3,87	50,1

CV = coefficiente di variazione, IVT = trascritto in vitro, DS = deviazione standard

*Dodici campioni hanno fornito risultati non validi per l'Aptima HPV Assay (1 per il campione clinico 1 positivo alto per HPV, 1 per il campione clinico 2 positivo alto per HPV, 1 per IVT HPV 16 (1.830 copie), 1 per IVT HPV 18 (1.550 copie), 1 per il campione clinico 1 positivo basso per HPV, 6 per IVT HPV 16 (183 copie) e 1 per le cellule SiHa (0,90 cellule)).

La variabilità da alcuni fattori può essere numericamente negativa. Tale circostanza si può verificare se la variabilità dovuta a questi fattori è molto piccola. In questi casi, il valore di DS e CV è indicato come pari a zero.

Tabella 26: Studio di precisione 2 dell'Aptima HPV Assay: variabilità del segnale per gli elementi del pannello con risultati positivi attesi

Descrizione del pannello (copie o cellule/reazione)	n	S/CO medio	Tra gli strumenti		Tra gli operatori		Tra i lotti		Tra le liste di lavoro		All'interno delle liste di lavoro		Totale	
			DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
Campione clinico 1 positivo alto per HPV	161*	26,81	0,75	2,8	0,00	0,0	0,91	3,4	0,48	1,8	1,84	6,9	2,24	8,3
Campione clinico 2 positivo alto per HPV	162	28,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,96	3,3	0,65	2,3	2,35	8,2	2,62	9,1
IVT HPV 16 (1.830 copie)	161*	11,07	0,14	1,2	0,00	0,0	0,05	0,5	0,16	1,4	0,32	2,9	0,39	3,5
IVT HPV 18 (1.550 copie)	162	13,34	0,14	1,1	0,12	0,9	1,00	7,5	0,31	2,3	0,75	5,6	1,31	9,8
Campione clinico 1 positivo basso per HPV	162	7,57	0,56	7,5	0,55	7,3	0,63	8,3	0,00	0,0	3,61	47,7	3,75	49,5
Campione clinico 2 positivo basso per HPV	162	7,59	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	5,25	69,2	5,25	69,2
Campione clinico 3 positivo basso per HPV	161*	8,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	3,0	0,00	0,0	3,48	39,4	3,49	39,5
Campione clinico 4 positivo basso per HPV	162	4,95	0,00	0,0	0,00	0,0	0,75	15,2	0,00	0,0	3,35	67,6	3,43	69,3
IVT HPV 16 (183 copie)	162	11,02	0,13	1,2	0,11	1,0	0,12	1,1	0,13	1,2	0,54	4,9	0,59	5,4
IVT HPV 18 (155 copie)	159*	11,40	0,16	1,4	0,17	1,5	1,21	10,6	0,23	2,0	1,17	10,3	1,72	15,0
Cellule MS751 (0,63 cellule)	162	9,87	0,76	7,7	0,00	0,0	0,65	6,6	0,65	6,6	1,41	14,3	1,85	18,7
Cellule HeLa (0,35 cellule)	162	7,80	0,55	7,0	0,00	0,0	0,85	10,9	0,00	0,0	2,44	31,3	2,65	33,9
Cellule SiHa (0,90 cellule)	162	7,30	0,32	4,3	0,00	0,0	0,93	12,7	1,04	14,3	3,49	47,8	3,77	51,7

CV = coefficiente di variazione, IVT = trascritto in vitro, DS = deviazione standard

*Sei campioni hanno fornito risultati non validi per l'Aptima HPV Assay (1 per il campione clinico 1 positivo alto per HPV, 1 per IVT HPV 16 (1.830 copie), 1 per il campione clinico 3 positivo basso per HPV, 3 per IVT HPV 18 (155 copie)).

Nota - La variabilità da alcuni fattori può essere numericamente negativa. Tale circostanza si può verificare se la variabilità dovuta a questi fattori è molto piccola. In questi casi, il valore di DS e CV è indicato come pari a zero.

Reattività crociata

Nota: l'analisi con gli organismi potenzialmente cross-reattivi per il test Aptima HPV Assay è stata eseguita sul sistema Tigris DTS. Il test Aptima HPV Assay è stato lanciato inizialmente sul sistema Tigris DTS nel 2008. Nel 2011, le indicazioni sono state estese all'utilizzo del test Aptima HPV 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 del test Aptima HPV Assay è stata valutata con terreno di soluzione PreservCyt diluito 1:2,9 in STM e arricchito con colture di batteri, lieviti o funghi, coltura di virus, o trascritti *in vitro* di HPV a basso rischio. Gli organismi e le concentrazioni di analisi sono indicati nella Tabella 27. I criteri di studio per la valutazione dell'effetto della presenza dei microrganismi sulla specificità del test si sono basati sulla positività. È stata osservata reattività crociata con i genotipi HPV a basso rischio 26, 67, 70 e 82, ma non con nessun altro degli organismi analizzati.

Tabella 27: Pannello di specificità analitica: organismi e concentrazioni senza reattività crociata

Organismo	Concentrazione di analisi senza reattività crociata	Organismo	Concentrazione di analisi senza reattività crociata
Batteri			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Lactobacillus mucosae</i> *	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Leptotrichia buccalis</i> *	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	5x10 ⁷ CFU/ml	<i>Micrococcus luteus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Bacillus cereus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	2x10 ⁷ CFU/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Mycoplasma fermentans</i>	5x10 ⁷ CFU/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Bifidobacterium breve</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	5x10 ⁷ CFU/ml
<i>Bifidobacterium longum</i> *	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Campylobacter fetus-fetus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae e Chlamydia trachomatis</i>	2,5x10 ⁷ CFU/ml 2,3x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml
<i>Campylobacter jejuni</i> *	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Neisseria meningitidis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	3,2x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Peptoniphilus lacrimalis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Clostridium difficile</i>	6x10 ⁷ CFU/ml	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Clostridium perfringens</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Prevotella bivia</i> *	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Proteus mirabilis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Eggerthella lenta</i> *	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Providencia stuartii</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Ruminococcus productus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Finegoldia magna</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Serratia marcescens</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Sneathia amnii</i> *	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁸ CFU/ml

Tabella 27: Pannello di specificità analitica: organismi e concentrazioni senza reattività crociata (*continua*)

Organismo	Concentrazione di analisi senza reattività crociata	Organismo	Concentrazione di analisi senza reattività crociata
<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Lactobacillus gasseri</i> *	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Ureaplasma parvum</i> *	1x10 ⁶ copie genomiche/ml
<i>Lactobacillus iners</i> *	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Lactobacillus jensenii</i>	1x10 ⁸ CFU/ml		
Lieviti/protozoi			
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Pichia fermentans</i> *	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i> *	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Trichomonas tenax</i> *	1x10 ⁶ cellule/ml**
<i>Pentatrichomonas hominis</i> *	1x10 ⁶ cellule/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1x10 ⁷ cellule/ml
Virus			
Adenovirus 2	1x10 ⁷ vp/ml	Virus dell'Herpes simplex 1	2,5x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml
Adenovirus 40*	1x10 ⁵ copie genomiche/ml	Virus dell'Herpes simplex 2	5x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
Cytomegalovirus	5,6x10 ² TCID ₅₀ /ml	HIV-1	1,0x10 ⁶ copie/ml
Virus di Epstein-Barr	4,3x10 ⁶ vp/ml	SV40	1,2 x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
Genotipi HPV non target			
HPV 6	2,5x10 ⁶ copie/ml	HPV 61	2,5x10 ⁶ copie/ml
HPV 11	2,5x10 ⁶ copie/ml	HPV 67	1 copie/ml
HPV 26	2,5 copie/ml	HPV 69	2,5x10 ⁶ copie/ml
HPV 30	2,5x10 ⁶ copie/ml	HPV 70	1 copie/ml
HPV 34	2,5x10 ⁶ copie/ml	HPV 71	2,5x10 ⁶ copie/ml
HPV 42	2,5x10 ⁶ copie/ml	HPV 73	2,5x10 ⁶ copie/ml
HPV 43	2,5x10 ⁶ copie/ml	HPV 81	2,5x10 ⁶ copie/ml
HPV 44	2,5x10 ⁶ copie/ml	HPV 82	1 copie/ml
HPV 53	2,5x10 ⁶ copie/ml	HPV 85	2,5x10 ⁶ copie/ml
HPV 54	2,5x10 ⁶ copie/ml		

vp = particelle virali; CFU = unità formanti colonie; TCID₅₀ = dose infettante mediana delle colture tissutali 50

Nota: In grassetto, i tipi per i quali è stata osservata reattività crociata (positività >5%) quando analizzati a concentrazioni superiori di quelle espresse nella tabella.

*Sono stati valutati ulteriori organismi per verificare la reattività crociata e l'interferenza microbica nei campioni vaginali prelevati autonomamente. È stato testato un panel composto da 15 organismi mediante STM in assenza o in presenza di cellule SiHa a 3 volte il LoD. Non è stata osservata alcuna reattività crociata né interferenza microbica per nessuno degli organismi alle concentrazioni indicate.

**Non è stata osservata alcuna reattività crociata per *Trichomonas tenax*. Mentre il 100% di positività per l'HPV target (cellule SiHa a 3X LoD) è stato mantenuto in presenza di *Trichomonas tenax*, è stata osservata una riduzione dei valori di S/CO che si sono ristabiliti ripetendo il test a 1x10⁵ cellule/ml.

La sensibilità analitica del test Aptima HPV Assay in presenza di microrganismi è stata valutata con lo stesso pannello descritto nella Tabella 27, anche in questo caso arricchito con una bassa concentrazione di cellule SiHa infettate da HPV (1 cellula per reazione). I criteri di studio per la valutazione dell'effetto della presenza dei microrganismi sulla sensibilità del test si sono basati sulla positività. Nessuno degli organismi analizzati ha influito sulla sensibilità del test Aptima HPV Assay.

Interferenza

Nota: *L'analisi con le sostanze potenzialmente interferenti per il test Aptima HPV Assay è stata eseguita sul sistema Tigris DTS. Il test Aptima HPV Assay è stato lanciato inizialmente sul sistema Tigris DTS nel 2008. Nel 2011 le indicazioni d'uso sono state estese all'utilizzo del test Aptima HPV 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 nella Tabella 28 sono state addizionate individualmente alla soluzione PreservCyt in concentrazioni pari a 1% e 10% v/v o p/v, diluite con STM, quindi analizzate con il test Aptima HPV Assay. Tutte le sostanze sono state analizzate in presenza e in assenza di cellule in coltura infettate da HPV (SiHa, 3 cellule/reazione). È stata osservata interferenza con due dei sette lubrificanti intimi contenenti polyquaternium 15 e con uno dei cinque farmaci antimicotici contenenti tioconazolo. Con nessuna delle altre sostanze analizzate è stata osservata interferenza.

Tabella 28: Sostanze testate per possibile interferenza con l'Aptima HPV Assay

Categoria di prodotto	Tipo e marca del prodotto	Concentrazione più alta* analizzata che non ha interferito con le prestazioni del test
Lubrificante	KY Sensual Mist	10% v/v
	KY Warming Jelly	10% p/v
	KY Warming Liquid	10% v/v
	Lubrificante intimo di marca CVS	10% p/v
	Lozione per massaggio riscaldante e lubrificante intimo di marca Target	10% v/v
	Lubrificante personale Astroglide**	0,3% p/v (0,075% p/v campione di analisi)
	Liquido lubrificante di marca Target**	0,1% v/v (0,025% v/v campione di analisi)
Spermicida	Contraccettivo vaginale Gynol II Formula originale	10% p/v
	Contraccettivo vaginale Gynol II Extra forte	10% p/v
	Schiuma contraccettiva vaginale Delfen	10% p/v
	Contraccettivo vaginale Encare	10% p/v
	Contraccettivo vaginale Conceptrol	10% p/v
Farmaco antimicotico/ antiprurito	Vagisil Maximum Strength	10% p/v
	Monistat Soothing Care	10% p/v
	Confezione multipla Monistat 3	10% p/v
	Tioconazolo 1 di marca Target	0,3% p/v (0,075% p/v campione di analisi)
	Miconazolo 3 di marca Target	10% p/v
Gel antibiotico[†]	Gel metronidazolo	123 µg/ml
Crema antivirale[†]	Crema Zovirax (aciclovir)	66 µg/ml
	Crema per l'herpes labiale Abreva	5% p/v
Crema per le emorroidi[†]	Crema per le emorroidi Anusol ^{††}	1% p/v
	Crema per le emorroidi Preparazione H	5% p/v
Crema a base di steroidi[†]	Crema lenitiva contro il prurito Cortizone-10 Max Strength	5% p/v
Lavanda vaginale[†]	Soluzione antisettica Dynarex Povidone-Iodine Prep	5% v/v
	Lavanda vaginale Summer's Eve, con aceto extra detergente e acqua	5% v/v
	Lavanda vaginale Summer's Eve Odor Reduction	5% p/v
Detergente intimo[†]	Summer's Eve Cleansing Wash	5% v/v
	Detergente a secco Vagisil	5% v/v
Gel antiodori[†]	Gel antiodori RepHresh	5% v/v
Igienizzante mani[†]	Igienizzante mani Germ-X	5% p/v
Sapone per le mani[†]	Sapone liquido per le mani antibatterico Dial	5% p/v
	Sapone liquido per le mani Method	5% p/v
Lozione[†]	Lozione per il corpo NIVEA	5% p/v

Tabella 28: Sostanze testate per possibile interferenza con l'Aptima HPV Assay (*continua*)

Categoria di prodotto	Tipo e marca del prodotto	Concentrazione più alta* analizzata che non ha interferito con le prestazioni del test
Crema solare[†]	Lozione idratante CeraVe	5% p/v
	Lozione solare Neutrogena	5% p/v
	Lozione solare idratante NIVEA	5% p/v
	Lozione solare minerale Coppertone Sport ^{††}	2,5% p/v
Acido acetico glaciale	EMD M/N AX0073-11	10% v/v
Sangue intero	Sangue intero	10% v/v
Muco[†]	Mucina di suino ^{††}	2,5% p/v
Ormoni intravaginali[†]	Estradiolo (estrogeno)	7,5 µg/ml
	Progesterone	0,18 mg/ml
Liquido seminale[†]	Liquido seminale	5% v/v
Leucociti[†]	Leucociti	1x10 ⁶ cellule/ml

*Concentrazione nel campione in soluzione PreservCyt; la concentrazione del campione da analizzare è pari a 1/4 della concentrazione a causa del trasferimento del campione in soluzione PreservCyt nella provetta di trasferimento contenente STM.

**Lubrificanti intimi contenenti Polyquaternium 15.

[†]Sono state valutate ulteriori sostanze per verificare eventuali interferenze nei campioni vaginali raccolti dalla paziente. È stato testato un panel composto da 15 sostanze mediante STM in assenza o in presenza di cellule SiHa a 3 volte il LoD.

^{††}È stata osservata un'interferenza con i seguenti prodotti quando presenti in concentrazioni superiori a quelle specificate: crema per emorroidi (contenente ossido di zinco, ossido di bismuto e balsamo del Perù) all'1% p/v, crema solare (contenente ossido di zinco) al 2,5% p/v e muco al 2,5% p/v.

Bibliografia

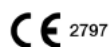
1. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond)*. **110(5)**:525-41.
2. **Monsonogo J., F.X. Bosch, P. Coursaget, J.T. Cox, E. Franco, I. Frazer, R. Sankaranarayanan, J. Schiller, A. Singer, T.C. Wright Jr, W. Kinney, C.J. Meijer, J. Linder, E. McGoogan, and C. Meijer.** 2004. Cervical cancer control, priorities and new directions. *Int J Cancer*. **108(3)**:329-33. Erratum in: *Int J Cancer*. **108(6)**:945.
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., S. Franceschi, R. Howell-Jones, P. J. Snijders, G. M. Clifford.** 2010. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer*, n/a. doi: 10.1002/ijc.25396.
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. **Baseman J.G., and L.A. Koutsky.** 2005. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol*. **32 Suppl 1**:S16-24.
10. **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.
11. **Wu R, Belinson SE, Du H, Na W, Qu X, Wu R, et al.** Human papillomavirus messenger RNA assay for cervical cancer screening: the Shenzhen Cervical Cancer Screening Trial I. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society*. 2010; 20(8):1411-4.
12. **Ratnam S, Coutlee F, Fontaine D, Bentley J, Escott N, Ghatage P, et al.** Aptima HPV E6/E7 mRNA test is as sensitive as Hybrid Capture 2 assay but more specific at detecting cervical precancer and cancer. *Journal of Clinical Microbiology*. 2011; 49(2):557-64.
13. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Halfon P, et al.** Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid-based cytology in primary cervical cancer screening: the FASE study. *International Journal of Cancer Journal international du cancer*. 2011;129:691-701.
14. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Smith JS.** Risk assessment and clinical impact of liquid-based cytology, oncogenic human papillomavirus (HPV) DNA and mRNA testing in primary cervical cancer screening (the FASE study). *Gynecologic Oncology*. 2012;125:175-80.
15. **Nieves L, Enerson CL, Belinson S, Brainard J, Chiesa-Vottero A, Nagore N, et al.** Primary cervical cancer screening and triage using an mRNA human papillomavirus assay and visual inspection. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society*. 2013;23(3):513-8.
16. **Cuzick J, Cadman L, Mesher D, Austin J, Ashdown-Barr L, Ho L, et al.** Comparing the performance of six human papillomavirus tests in a screening population. *British Journal of Cancer*. 2013;108:908-13.
17. **Rebolj M, Preisler S, Ejegod DM, Bonde J, Rygaard C, Lynge E.** Prevalence of human papillomavirus infection in unselected SurePath samples using the APTIMA HPV mRNA assay. *The Journal of Molecular Diagnostics*:2013;15(5):670-7.
18. **Rebolj M, Bonde J, Ejegod D, Preisler S, Rygaard C, Lynge E.** A daunting challenge: human papillomavirus assays and cytology in primary cervical screening of women below age 30 years. *European Journal of Cancer*. 2015;51:1456-66.
19. **Rebolj M, Bonde J, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Lynge E.** Human Papillomavirus Assays and Cytology in Primary Cervical Screening of Women Aged 30 Years and Above. *PLoS One*. 2016 Jan 20;11(1):e0147326.
20. **Preisler S, Rebolj M, Ejegod DM, Lynge E, Rygaard C, Bonde J.** Cross-reactivity profiles of hybrid capture II, cobas, and APTIMA human papillomavirus assays: split-sample study. *BMC Cancer*. 2016;16:510.
21. **Rebolj M, Bonde J, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Lynge E.** Differential Detection of Human Papillomavirus Genotypes and Cervical Intraepithelial Neoplasia by Four Commercial Assays. *Journal of Clinical Microbiology*. 2016;54(11):2669-2675.
22. **Rebolj M, Njor S, Lynge E, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Bonde J.** Referral population studies underestimate differences between human papillomavirus assays in primary cervical screening. *Cytopathology*. 2017;28(5):419-428.
23. **Heideman DAM, Hesselink AT, van Kemenade FJ, Iftner T, Berkhof J, Topal F, et al.** The Aptima HPV assay fulfills the cross-sectional clinical and reproducibility criteria of international guidelines for human papillomavirus test requirements for cervical screening. *Journal of Clinical Microbiology*. 2013;51(11):3653-7.
24. **Pyne MT, Hamula CL, Tardif K, Law C, Schlager R.** High-risk HPV detection and genotyping by APTIMA HPV using cervical samples. *Journal of Virological Methods*. 2015;221:95-9.
25. **Iftner T, Becker S, Neis KJ, Castanon A, Iftner A, Holz B, et al.** Head-to-Head Comparison of the RNA368 Based Aptima Human Papillomavirus (HPV) assay and the DNA-Based Hybrid Capture 2 HPV Test in a Routine Screening Population of Women Aged 30 to 60 Years in Germany. *Journal of Clinical Microbiology*. 2015;53:2509-16.

26. **Iftner T, Neis KJ, Castanon A, Landy R, Holz B, Woll-Herrmann A, et al.** Longitudinal Clinical Performance of the RNA-Based Aptima Human Papillomavirus (AHPV) assay in Comparison to the DNA-Based Hybrid Capture 2 HPV Test in Two Consecutive Screening Rounds with a 6-Year Interval in Germany. *Journal of Clinical Microbiology*. 2019;57(1):e01177-18.
27. **Maggino T, Sciarone R, Murer B, Dei Rossi MR, Fedato C, Maran M, et al.** Screening women for cervical cancer carcinoma with a HPV mRNA test: first results from the Venice pilot program. *British Journal of Cancer* volume 115, pages 525-532(2016).
28. **Zorzi M, Del Mistro A, Giorgi Rossi P, Laurino L, Battagello J, Lorio M, et al.** Risk of CIN2 or more severe lesions after negative HPVmRNA E6/E7 overexpression assay and after negative HPV-DNA test: Concurrent cohorts with a 5-year follow-up. *International Journal of Cancer*. 2020 Jun 1;146(11):3114-3123.
29. **Cook DA, Smith LW, Law J, Mei W, van Niekerk DJ, Ceballos K, et al.** Aptima HPV assay versus Hybrid Capture® 2 HPV test for primary cervical cancer screening in the HPV FOCAL trial. *Journal of clinical virology* 2017;87:23-29.
30. **Cook DA, Smith LW, Law JH, Mei W, Gondara L, van Niekerk DJ, et al.** Comparative performance of human papillomavirus messenger RNA versus DNA screening tests at baseline and 48 months in the HPV FOCAL trial. *Journal of Clinical Virology*. 2018;108:32-37.
31. **Huijsmans CJ, Geurts-Giele WR, Leeijen C, Hazenberg HL, van Beek J, de Wild C, et al.** HPV Prevalence in the Dutch cervical cancer screening population (DuSC study): HPV testing using automated HC2, cobas and Aptima workflows. *BMC Cancer*. 2016;16(1):922.
32. **Loonen AJM, Huijsmans CJJ, Geurts-Giele WRR, Leeijen C, van der Linden JC, van den Brule, AJC.** Performance analysis of high-throughput HPV testing on three automated workflows. *APMIS* 2020; 128: 497- 505.
33. **Lindroth Y, Borgfeldt C, Thorn G, Bodelsson G, Forslund O.** Population-based primary HPV mRNA cervical screening compared with cytology screening. *Preventative Medicine*. 2019;124:61-66.
34. **Forslund O, Miriam Elfström K, Lamin H, Dillner J.** HPV-mRNA and HPV-DNA detection in samples taken up to seven years before severe dysplasia of cervix uteri. *International Journal of Cancer*. 2019 Mar 1;144(5):1073-1081.
35. **Sangrajrang S, Laowahutanont P, Wongsena M, Muwonge R, Imsamran W, Ploysawang P, Basu P.** Human papillomavirus (HPV) DNA and mRNA primary cervical cancer screening: Evaluation and triaging options for HPV-positive women. *Journal of Medical Screening*. 2019 Dec;26(4):212-218.
36. **Datta, S. D., L. A. Koutsky, S. Ratelle, E. R. Unger, J. Shlay, T. McClain, B. Weaver, P. Kerndt, J. Zenilman, M. Hagensee, C. J. Suhr, and H. Weinstock.** 2008. Human Papillomavirus Infection and Cervical Cytology in Women Screened for Cervical Cancer in the United States, 2003–2005. *Annals Int Med*. **148**:493.
37. **Clifford, G.M., S. Gallus, R. Herrero, N. Muñoz, P. J. F. Snijders, S. Vaccarella, P. T. H. Anh, C. Ferreccio, N. T. Hieu, E. Matos, M. Molano, R. Rajkumar, G. Ronco, S. de Sanjosé, H. R. Shin, S. Sukvirach, J. O. Thomas, S. Tunsakul, C. J. L. M. Meijer, S. Franceschi, and the IARC HPV Prevalence Surveys Study Group.** Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled Analysis. 2005. *The Lancet*. **366**, 991.
38. **Stoler, M.H., T.C. Wright, Jr., J. Cuzick, J. Dockter, J. Reid, D. Getman, C. Giachetti.** 2013. Aptima HPV assay performance in women with atypical squamous cells of undetermined significance cytology results. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. **208(2)**:144-145.
39. **Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, and Solomon D.** 2006 Consensus Guidelines for the Management of Women with Abnormal Cervical Cancer Screening Tests. 2007. *Am J Obstet Gynecol* 197 (4); 346-355.
40. **Pretorius R.G., W. H. Zhang, J. L. Belinson, et al.** Colposcopically directed biopsy, random cervical biopsy, and endocervical curettage in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia II or worse. 2004. *Am J Obstet Gynecol*. **191**:430-434.
41. **Pretorius R.G., R. J. Kim, J. L. Belinson, P. Elson, Y-L Qiao.** Inflation of sensitivity of cervical cancer screening tests secondary to correlated error in colposcopy. 2006. *J Low Genit Tract Dis*. **10(1)**:5-9.
42. **Kacian, D.L. and T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
43. **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.
44. **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.
45. **Mathews, C. S., Sargent, A., Cuschieri, K., Rebolj, M., Brentnall, A. R., Mackie, A., Mills, C., Martinelli, C., Wright, A. M., Hunt, K., Bird, A., Patel, H., Smith, D., Johnson, T., Ellis, K., Hunt, M., & Denton, K.** 2025. HPVValidate-human papillomavirus testing with DNA and mRNA assays on self-collected samples in cervical screening: comparison of test characteristics on three self-sampling devices. *British journal of cancer*, 133(5), 665–673.

Recapiti e Cronologia delle revisioni



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Australian Sponsor
Hologic (Australia & New
Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

Per l'indirizzo e-mail e il numero di telefono dell'Assistenza Tecnica e del servizio di Assistenza Clienti specifici del Paese, visitare il sito web www.hologic.com/support.

Eventuali incidenti gravi che si verificano in relazione al dispositivo, nell'area dell'Unione Europea, devono essere comunicati al produttore e alle autorità competenti dello Stato Membro di residenza dell'utente e/o del paziente.

Hologic, Aptima, DTS, Genesis, Panther, Panther Fusion, PreservCyt, ThinPrep, Tigris e i relativi loghi sono marchi commerciali o marchi registrati di Hologic, Inc. e/o delle aziende consociate negli U.S.A. e/o in altri Paesi.

SurePath e PrepStain sono marchi commerciali di BD.

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.

©2016–2026 Hologic, Inc. Tutti i diritti riservati.

AW-22202-701 Rev. 003

2026-04

Cronologia delle revisioni	Data	Descrizione
AW-22202-701 Rev. 001	Marzo 2023	- Creazione delle Istruzioni per l'uso per il test Aptima™ HPV Assay (Panther™ System) AW-22202 Rev. 001 basate su AW-14517 Rev. 007 per la conformità alla normativa IVDR. - Aggiornata sezione Uso previsto, mediante l'eliminazione del riferimento all'utilizzo sul sistema Tigris DTS. - Aggiunta sezione Sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione. - Aggiornate le Informazioni sui rischi UE. - Aggiornate le sezioni Avvertenze e precauzioni, Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti, Raccolta e conservazione dei campioni, Reagenti e materiali forniti, Materiali richiesti ma disponibili separatamente, Procedura di analisi sul Panther System, Limiti, tabelle sulla Precisione del test, Reattività crociata, Interferenza e Bibliografia. - Aggiornate informazioni di contatto, tra cui: informazioni relative al rappresentante presso la Comunità europea, al marchio CE, al rappresentante australiano e all'assistenza tecnica - Aggiornamenti vari di stile e formattazione.
AW-22202-701 Rev. 002	Agosto 2024	Tabella sulle prestazioni cliniche dei campioni SurePath aggiornata.

Cronologia delle revisioni	Data	Descrizione
AW-22202-701 Rev. 003	Aprile 2026	• Aggiunte informazioni sulla sicurezza, quali le buone pratiche standard e le precauzioni universali • Aggiornata la tabella SDS • Aggiornate le istruzioni per la preparazione dei reagenti del nuovo kit • Aggiornata la sezione Limiti • Aggiunta la sezione Prestazioni cliniche dell'Aptima HPV Assay con campioni biologici di tampone multitest Aptima • Aggiornata la tabella delle interferenze delle sostanze e degli organismi/concentrazioni • Rimosse le sezioni relative al processore ThingPrep pre e post citologia • Aggiornate le informazioni bibliografiche