

Aptima Specimen Transfer Kit

Per uso diagnostico *in vitro*.
Solo per l'esportazione dagli USA.

Uso previsto

L'Aptima Specimen Transfer Kit (kit di trasferimento dei campioni Aptima) è destinato esclusivamente all'uso con i test Aptima. L'Aptima Specimen Transfer Kit permette di analizzare con i test Aptima i campioni ginecologici raccolti in fiale per Pap test ThinPrep contenenti la soluzione PreservCyt™. L'Aptima Specimen Transfer Kit permette inoltre di analizzare con l'Aptima HPV assay e con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay i campioni ginecologici raccolti nel liquido conservante SurePath. L'Aptima Specimen Transfer Kit può anche essere utilizzato per trasferire campioni di tamponi da lesioni in Viral Transport Media (VTM).

Reagenti

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

Materiali forniti

Aptima Specimen Transfer Kit (N. cat. 301154C)

Componente	Quantità	Descrizione
Provette di trasporto dei campioni Aptima	100 provette	1 provetta da 2,9 ml.

Materiali richiesti ma disponibili separatamente

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

Pipettatore e puntali in grado di pipettare 1000 µl

Candeggina, soluzione di ipoclorito di sodio dal 5% al 7% (da 0,7 M a 1,0 M)

Rastrelliera per provette

Coperture assorbenti per il banco del laboratorio con retro in plastica

Salviette ultra assorbenti Fisherbrand BloodBloc (disponibili presso Fisher Scientific)

Salviette monouso prive di lanugine

Kit della soluzione di trasporto Aptima (N. cat. 303658), per il trattamento dei campioni SurePath

Pipettatore e puntali con capacità di pipettaggio di 300 µl

Pipettatore e puntali con capacità di pipettaggio di 25 ml

Bagnomaria con capacità di mantenimento della temperatura a 90 °C

Sfere in polipropilene per il bagnomaria, diametro 20 mm

Materiali opzionali

Filtri ginecologici TransCyt™ (trasparenti) da usare con il ThinPrep 2000 System

Requisiti di conservazione del kit

Prima dell'uso conservare le provette di trasferimento dei campioni a temperatura ambiente (tra 15 °C e 30 °C).

Alla consegna, conservare la soluzione di trasporto Aptima tra 2 °C e 8 °C (in frigorifero).

Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza indicata sulle fiale.

Avvertenze e precauzioni

- A. Per la manipolazione dei campioni per citologia in fase liquida ThinPrep, consultare le istruzioni per l'uso del ThinPrep 2000 System, ThinPrep 3000 System*, ThinPrep 5000 Processor o ThinPrep 5000 Processor con AutoLoader (ThinPrep 5000 Systems).
- B. Se verrà utilizzata la procedura di rimozione delle aliquote, consultare le istruzioni di ThinPrep 2000 System, ThinPrep 3000 System o ThinPrep 5000 Systems.
- C. Usare l'Aptima Specimen Transfer Kit solo con i test Aptima. Le prestazioni con gli altri prodotti non sono state valutate.
- D. Non applicare il terreno di trasporto dei campioni Aptima direttamente sulle mucose o sulla cute non assumere per via interna.
- E. Usare solo materiali di laboratorio monouso forniti o specificati.
- F. Adottare le consuete precauzioni di laboratorio. Non mangiare, bere né fumare nelle aree di lavoro designate. Durante la manipolazione dei campioni e dei reagenti, indossare guanti monouso senza talco, occhiali protettivi e camici da laboratorio. Lavarsi accuratamente le mani dopo aver manipolato i campioni e i reagenti.
- G. I campioni potrebbero essere infettivi. Adottare le precauzioni universali durante la manipolazione dei campioni. Le procedure descritte in questo foglietto illustrativo devono essere eseguite solo dal personale di laboratorio adeguatamente addestrato alla manipolazione dei materiali infettivi.
- H. Prestare attenzione ad evitare la contaminazione crociata durante le fasi della manipolazione dei campioni. I campioni possono contenere livelli elevati di organismi. Cambiarsi i guanti frequentemente e ogni qualvolta vengono a contatto con il campione. Eliminare i materiali usati senza farli passare sopra i contenitori aperti. Evitare che i contenitori dei campioni vengano a contatto l'uno con l'altro.
- I. Le superfici di lavoro, le pipette e le altre apparecchiature devono essere decontaminate regolarmente con una soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5% preparata con acqua deionizzata. Se nella soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5% non si utilizza acqua deionizzata, l'efficacia della soluzione può risultare compromessa. Il pH dell'acqua di rubinetto varia da un laboratorio all'altro. L'acqua alcalina può ridurre il cloro disponibile rendendo l'ipoclorito di sodio meno efficace per la decontaminazione delle apparecchiature. Consultare le *Note procedurali relative ai campioni per citologia in fase liquida ThinPrep*, le *Note procedurali relative ai campioni per citologia in fase liquida SurePath* e le *Istruzioni per la decontaminazione*. L'efficacia della procedura di decontaminazione del ThinPrep 2000 System non è stata valutata relativamente all'impatto sui risultati dell'analisi citologica. Prima di implementare la procedura di decontaminazione, i laboratori dovrebbero convalidarla in modo tale che non influisca sui risultati dell'analisi citologica.
- J. Per trasferire i campioni nelle provette di trasferimento devono essere utilizzati solo puntali per pipetta con filtro idrofobo.
- K. Non usare il kit dopo la data di scadenza.
- L. Mantenere le corrette condizioni di temperatura durante la spedizione e la conservazione dei campioni, per assicurarne l'integrità. Per le specifiche condizioni di spedizione e conservazione consultare il foglietto illustrativo del relativo Aptima assay.
- M. Smaltire i rifiuti, i residui dei campioni clinici e i reagenti non utilizzati in base ai regolamenti locali.
- N. Per l'analisi dei campioni ginecologici trattati con il ThinPrep 2000 System è stata convalidata una specifica procedura per ridurre il potenziale di contaminazione crociata durante l'analisi citologica. La procedura comprende due fasi importanti: (1) immersione del cappuccio del filtro in una soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5% per 1 minuto durante il trattamento tra un campione e l'altro e (2) cambio dei guanti da parte dell'operatore tra un campione e l'altro. Per il protocollo dettagliato consultare le *Note procedurali relative ai campioni per citologia in fase liquida ThinPrep C*.
- O. Non trasferire né utilizzare il campione per citologia in fase liquida SurePath per l'analisi con l'Aptima HPV assay o con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay se nella fiala non è presente un dispositivo di raccolta.
- P. Prestare attenzione durante la manipolazione della soluzione di trasporto Aptima (soluzione di ricostituzione della proteinasi K e soluzione di trasporto con proteinasi K ricostituita), evitare il contatto diretto con la cute o con le mucose ed evitare l'ingestione. Se questi reagenti vengono a contatto con la cute o con gli occhi lavare con acqua. Se si verificano dei versamenti, diluire con acqua e asciugare con un panno.

*Da usare solo con l'Aptima HPV assay e l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay

Prestazioni dei campioni ginecologici

Le caratteristiche delle prestazioni analitiche dei campioni ginecologici raccolti in fiale per citologia in fase liquida ThinPrep e SurePath sono fornite nel foglietto illustrativo del relativo Aptima assay. I foglietti illustrativi dei test Aptima possono essere consultati online sul sito www.genhologic.com. Nella tabella riportata di seguito è indicata la procedura accettabile per le aliquote per ognuno dei test Aptima.

Aptima assay per	Aliquota pre-trattata	Aliquota post-trattata			Campioni per citologia in fase liquida SurePath
		ThinPrep 2000 System	ThinPrep 3000 System	ThinPrep 5000 Systems	
<i>Chlamydia trachomatis</i> e <i>Neisseria gonorrhoeae</i> (Aptima Combo 2™ assay)	Sì	Sì	No	No	No
<i>Chlamydia trachomatis</i> (Aptima CT assay)					
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (Aptima GC assay)		No	No	No	No
<i>Mycoplasma genitalium</i> (Aptima Mycoplasma genitalium assay)					
<i>Trichomonas vaginalis</i> (Aptima Trichomonas vaginalis assay)					
Papillomavirusumano (Aptima HPV assay)		Sì	Sì	Sì	Sì
Papillomavirusumano (Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay)					

Trasporto e conservazione dei campioni

Nota - Fare riferimento al foglietto illustrativo Aptima appropriato per informazioni complete su conservazione e manipolazione.

Campioni per citologia in fase liquida ThinPrep

I campioni ginecologici possono essere conservati nelle fiale per citologia in fase liquida ThinPrep per almeno 30 giorni a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C prima di essere trasferiti nelle provette di trasferimento dei campioni Aptima. Per ulteriori informazioni sulla conservazione e la manipolazione, consultare il foglietto illustrativo del relativo Aptima assay. I campioni per citologia in fase liquida ThinPrep trasferiti nella provetta di trasferimento dei campioni Aptima possono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C per almeno 14 giorni. Per ulteriori informazioni sulla conservazione e la manipolazione, consultare il foglietto illustrativo del relativo Aptima assay.

Campioni per citologia in fase liquida SurePath

I campioni ginecologici possono essere conservati nella fiala per citologia in fase liquida SurePath per 7 giorni a una temperatura compresa tra 2 °C e 25 °C prima di essere trasferiti nelle provette di trasferimento dei campioni Aptima. Una volta trasferito nella provetta di trasferimento del campione Aptima, il campione per citologia in fase liquida SurePath può essere conservato per 7 giorni a una temperatura compresa tra 2 °C e 25 °C prima del trattamento con la soluzione di trasporto Aptima. I campioni SurePath vanno trattati prima di essere analizzati con l'Aptima HPV assay e con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay. Per ulteriori informazioni sulla conservazione e la manipolazione, consultare i foglietti illustrativi dell'Aptima HPV assay e dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay.

Campioni di tamponi da lesioni VTM

I campioni di tamponi da lesioni possono essere conservati per 3 giorni nella provetta VTM a 2 °C – 8 °C prima del trasferimento nelle provette di trasferimento di campioni Aptima. Fare riferimento al foglietto illustrativo appropriato del dosaggio Aptima per informazioni aggiuntive su conservazione e manipolazione. I campioni di tamponi da lesioni VTM trasferiti nella provetta di trasferimento dei campioni Aptima possono essere conservati a 2 °C – 30 °C per un massimo di 30 giorni prima dell'analisi. Se è necessaria una conservazione più lunga, congelare i campioni di tamponi da lesione VTM nella provetta di trasferimento dei campioni Aptima a ≤ -20 °C fino a 90 giorni.

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

Note procedurali relative ai campioni per citologia in fase liquida ThinPrep

A. Preparazione dell'area di trasferimento dei campioni

1. Indossare dei guanti puliti.
2. Pulire le superfici di lavoro e i pipettatori con una soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5%. Preparare tale soluzione diluendo con acqua deionizzata la soluzione di ipoclorito di sodio a concentrazione compresa tra il 5% e il 7% (tra 0,7 M e 1,0 M). La soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5% conserverà la sua efficacia per 1 settimana se opportunamente conservata.
3. Lasciare la soluzione di ipoclorito di sodio a contatto con le superfici di lavoro e i pipettatori per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua. Asciugare le superfici con dei tovaglioli di carta.
4. Coprire il banco del laboratorio con delle apposite coperture assorbenti pulite con retro in plastica.
5. Nell'area di trasferimento dei campioni, collocare una rastrelliera per provette contenente un numero sufficiente di provette di trasferimento dei campioni Aptima pari al numero di campioni per citologia in fase liquida ThinPrep da analizzare.

Se verrà utilizzata la procedura di rimozione delle aliquote ThinPrep, consultare le istruzioni per l'uso di ThinPrep 2000 System, ThinPrep 3000 System o ThinPrep 5000 Systems sulla rimozione delle aliquote e attenersi alla procedura Hologic per il trasferimento dei campioni come riportato nella *Nota procedurale B*.

Se i campioni per citologia in fase liquida ThinPrep verranno trasferiti nelle provette di trasferimento dei campioni Aptima dopo il trattamento con il ThinPrep 2000 System, effettuare il trattamento con il ThinPrep 2000 System in base alle istruzioni riportate nella *Nota procedurale C* e nella *Nota procedurale D*.

Se i campioni per citologia in fase liquida ThinPrep verranno trasferiti nelle provette di trasferimento dei campioni Aptima dopo il trattamento con il ThinPrep 3000 System, effettuare il trattamento con il ThinPrep 3000 System in base alle istruzioni per l'uso del ThinPrep 3000 System.

Se i campioni per citologia in fase liquida ThinPrep verranno trasferiti nelle provette di trasferimento dei campioni Aptima dopo il trattamento con uno dei ThinPrep 5000 Systems, effettuare il trattamento con i ThinPrep 5000 Systems in base alle istruzioni per l'uso dei ThinPrep 5000 Systems.

B. Procedura di trasferimento dei campioni per aliquote di campioni per citologia in fase liquida rimossi prima del trattamento con ThinPrep 2000 System, ThinPrep 3000 System o ThinPrep 5000 Systems.

1. Indossare guanti puliti e trasferire i campioni da analizzare nell'area di trasferimento dei campioni.
2. Togliere il cappuccio dalla provetta di trasferimento del campione Aptima e appoggiarlo sul banco con la parte filettata rivolta verso l'alto.
3. Miscelare con il vortex per 3-10 secondi la provetta contenente l'aliquota rimossa dal campione per citologia in fase liquida ThinPrep. Togliere il cappuccio dalla provetta e appoggiarlo sul banco con la parte filettata rivolta verso l'alto.
4. Entro 1 minuto dalla miscelazione con il vortex, trasferire 1 ml di campione per citologia in fase liquida ThinPrep nella provetta di trasferimento del campione Aptima.
5. Smaltire il puntale per pipetta in un contenitore adeguato per rifiuti a rischio biologico.
6. Richiudere bene la provetta di trasferimento del campione Aptima. Capovolgere con attenzione 2 o 3 volte la provetta per assicurare la completa miscelazione del campione.
7. Richiudere la provetta contenente l'aliquota rimossa dal campione per citologia in fase liquida ThinPrep se si desidera conservarla per 30 giorni a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C.

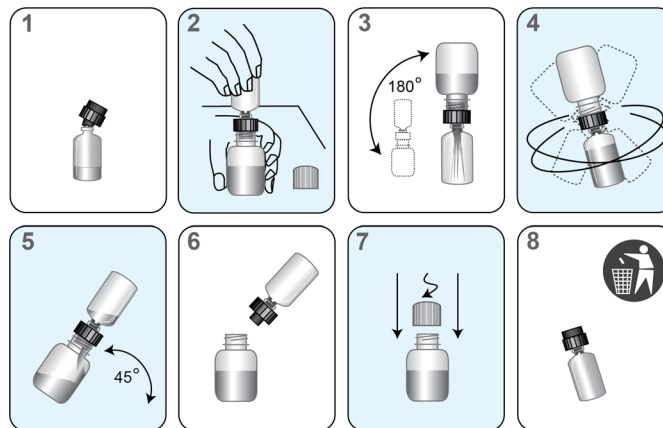
8. Indossare guanti puliti e ripetere le fasi sopra riportate da 1 a 7 per trasferire i successivi campioni. Per ridurre il rischio di contaminazione degli altri campioni, lavorare con un campione per citologia in fase liquida ThinPrep alla volta.
 9. Procedere con la sezione *Procedura analitica*.
- C. Trattamento dei campioni per citologia in fase liquida ThinPrep con il ThinPrep 2000 System
- Consultare le istruzioni per l'uso del ThinPrep 2000 System per eseguire le fasi del trattamento per la citologia standard e la manutenzione delle guarnizioni ad anello (O-ring) alla base del cappuccio del filtro.
- Nota** - Le seguenti procedure di pulizia sul ThinPrep 2000 System non sono obbligatorie per gli Aptima HPV assay. Per ulteriori informazioni vedere il paragrafo *Studio sulla contaminazione dei campioni per citologia in fase liquida ThinPrep relativo all'Aptima HPV Assay* riportato di seguito.
1. Indossare dei guanti puliti.
 2. Pulire i 2 cappucci del filtro immergendoli in una soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5% per almeno 1 minuto, sciacquarli con acqua deionizzata e asciugarli bene con una salvietta monouso priva di lanugine. Gettare la salvietta.
- Nota** - L'uso di due cappucci del filtro permette di continuare il flusso di lavoro mentre uno dei due cappucci è in ammollo.
3. Appoggiare un cappuccio del filtro pulito su una salvietta ultra assorbente BloodBloc.
 4. Posizionare il bagno fissativo nel ThinPrep 2000 System.
 5. Preparare un gruppo filtrante collocando un nuovo filtro ginecologico TransCyt in un cappuccio del filtro pulito e inserendo il gruppo filtrante nel ThinPrep 2000 System (per i dettagli sull'esecuzione di questa fase, consultare le istruzioni per l'uso del ThinPrep 2000 System).
 6. Mettere un vetrino nell'apposito supporto. (per i dettagli sull'esecuzione di questa fase, consultare le istruzioni per l'uso del ThinPrep 2000 System).
 7. Togliere il cappuccio della fiala per Pap test ThinPrep e appoggiarlo sul banco con la parte filettata rivolta verso l'alto. Accertarsi che il banco sia pulito, senza residui di candeggina o particelle estranee.
 8. Caricare la fiala per Pap test ThinPrep nel ThinPrep 2000 System. Dal menu principale del ThinPrep System, selezionare "4-GYN" premendo **4** sul tastierino.
 9. Indossare dei guanti puliti.
 10. Una volta terminata la preparazione del vetrino, aprire lo sportello, togliere la fiala per Pap test ThinPrep e richiudere la fiala.
 11. Togliere il bagno fissativo e immergere il vetrino in un bagno di etanolo al 95%.
 12. Ricollocare il bagno fissativo nel sistema.
 13. Togliere il gruppo filtrante dal sistema afferrando con una mano il cappuccio del filtro e separare il filtro dal cappuccio utilizzando come barriera una salvietta monouso priva di lanugine. Gettare il filtro, i guanti e la salvietta monouso. **Non gettare il cappuccio del filtro.**
 14. Immergere il cappuccio del filtro in un recipiente contenente una soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5% e lasciarlo per almeno 1 minuto.
 15. Con i guanti puliti, sciacquare il cappuccio del filtro con acqua deionizzata e asciugarlo bene con una salvietta monouso priva di lanugine. Gettare la salvietta.
 16. Ripetere l'operazione per ogni campione partendo dalla fase 3 di questa procedura di trattamento, cambiando i guanti tra un campione e l'altro, fino a quando tutti i campioni saranno stati trattati.
- D. Procedura di trasferimento dei campioni per aliquote di campioni per citologia in fase liquida ThinPrep dopo il trattamento con ThinPrep 2000 System, ThinPrep 3000 System o ThinPrep 5000 Systems.
1. Indossare guanti puliti e trasferire i campioni da analizzare nell'area di trasferimento dei campioni.
 2. Togliere il cappuccio dalla provetta di trasferimento del campione Aptima e appoggiarlo sul banco con la parte filettata rivolta verso l'alto.
 3. Miscelare con il vortex la fiala per Pap test ThinPrep per 3-10 secondi. Togliere il cappuccio dalla fiala e appoggiarlo sul banco con la parte filettata rivolta verso l'alto.
 4. Entro 1 minuto dalla miscelazione con il vortex, trasferire 1 ml di campione trattato per citologia in fase liquida ThinPrep nella provetta di trasferimento del campione Aptima.

5. Smaltire il puntale per pipetta in un contenitore adeguato per rifiuti a rischio biologico.
6. Richiudere bene la provetta di trasferimento del campione Aptima. Capovolgere con attenzione 2 o 3 volte la provetta per assicurare la completa miscelazione del campione.
7. Richiudere la fiala per Pap test ThinPrep se si desidera conservarla.
8. Indossare guanti puliti e ripetere le fasi sopra riportate da 1 a 7 per trasferire i successivi campioni. Per ridurre il rischio di contaminazione degli altri campioni, lavorare con un campione per citologia in fase liquida ThinPrep trattato alla volta.
9. Procedere alla sezione *Procedura analitica*.

Note procedurali relative ai campioni per citologia in fase liquida SurePath

- A. Preparazione dell'area di trasferimento dei campioni
 1. Indossare dei guanti puliti.
 2. Pulire le superfici di lavoro e i pipettatori con una soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5%. Preparare tale soluzione diluendo con acqua deionizzata la soluzione di ipoclorito di sodio a concentrazione compresa tra il 5% e il 7% (tra 0,7 M e 1,0 M). La soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5% conserverà la sua efficacia per 1 settimana se opportunamente conservata.
 3. Lasciare la soluzione di ipoclorito di sodio a contatto con le superfici di lavoro e i pipettatori per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua. Asciugare le superfici con dei tovaglioli di carta.
 4. Coprire il banco del laboratorio con delle apposite coperture assorbenti pulite con retro in plastica.
 5. Nell'area di trasferimento dei campioni, collocare una rastrelliera per provette contenente un numero sufficiente di provette di trasferimento dei campioni Aptima pari al numero di campioni per citologia in fase liquida SurePath da analizzare.
 6. Contrassegnare ogni provetta di trasferimento del campione Aptima con un'etichetta su cui è indicato il numero di accessione o l'ID del campione.
- B. Procedura di trasferimento dei campioni per citologia in fase liquida SurePath
 1. Indossare guanti puliti e trasferire il campione da analizzare nell'area di trasferimento dei campioni.
 2. Togliere il cappuccio dalla provetta di trasferimento del campione Aptima e appoggiarlo sul banco con la parte filettata rivolta verso l'alto.
 3. Miscelare con il vortex la fiala per citologia in fase liquida SurePath per 3-10 secondi. Togliere il cappuccio dalla fiala e appoggiarlo sul banco con la parte filettata rivolta verso l'alto.
 4. Entro 1 minuto dal vortex, trasferire 0,5 ml dei campioni per citologia in fase liquida SurePath nella provetta di trasferimento dei campioni Aptima. Fare riferimento a *Procedura per il trattamento dei campioni per citologia in fase liquida SurePath* per ulteriori dettagli.
 5. Smaltire il puntale per pipetta in un contenitore adeguato per rifiuti a rischio biologico.
 6. Richiudere bene la provetta di trasferimento del campione Aptima. Capovolgere con attenzione 2 o 3 volte la provetta per assicurare la completa miscelazione del campione.
 7. Richiudere la fiala SurePath, se si desidera conservarla.
 8. Indossare guanti puliti e 7 ripetere le fasi sopra riportate da a per trasferire i successivi campioni. Per ridurre il rischio di contaminazione degli altri campioni, lavorare con un campione per citologia in fase liquida SurePath alla volta.
 9. Procedere alla sezione *Procedura analitica*.
- C. Procedura per il trattamento dei campioni per citologia in fase liquida SurePath
 1. Preparazione della superficie di lavoro
 - a. Indossare dei guanti puliti.
 - b. Pulire la parte superiore del banco di lavoro o le superfici dell'area di lavoro con una soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5% (usare acqua deionizzata per diluire la soluzione di ipoclorito di sodio dal 5% al 7%; una soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5% precedentemente preparata manterrà la sua efficacia per 1 settimana se conservata correttamente).

- c. Lasciare la soluzione a contatto con le superfici per 1 minuto, quindi risciacquare con acqua. Asciugare le superfici con dei tovaglioli di carta.
 - d. Coprire il banco del laboratorio con apposite coperture assorbenti con retro in plastica pulite.
2. Preparazione di un nuovo kit di reagente soluzione di trasporto Aptima
- a. Aprire la fiala Pro K liofilizzata (vetro).
 - b. Inserire con decisione nell'apertura della fiala in vetro l'estremità indentata del collare di ricostituzione (Figura 1, fase 1).
 - c. Aprire il flacone della soluzione di ricostituzione Pro K (plastica) e appoggiare il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
 - d. Tenendo il flacone in plastica sul banco, inserire con fermezza l'altra estremità del collare di ricostituzione nel flacone (Figura 1, fase 2).
 - e. Capovolgere il flacone insieme alla fiala collegata. Lasciar drenare la soluzione nella fiala di vetro (Figura 1, fase 3). Il volume di liquido deve superare il volume della fiala di vetro e parte del liquido rimarrà nel collare di ricostituzione.
 - f. Agitare ruotando delicatamente la soluzione nella fiala per miscelarla (Figura 1, fase 4).
 - g. Attendere che il reagente liofilizzato vada in soluzione (circa 3 minuti).
 - h. Capovolgere il flacone e la fiala assemblati (Figura 1, fase 5). Lasciare che tutto il liquido ritorni nel flacone.
 - i. Ripetere la fase h.
 - j. Rimuovere il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 1, fase 6).
 - k. Richiudere il flacone in plastica (Figura 1, fase 7).
 - l. Miscelare capovolgendo il flacone 5 o 6 volte.
 - m. Registrare sul flacone le iniziali dell'operatore e la data di ricostituzione.
 - n. Gettare via sia il collare di ricostituzione sia il flacone di vetro (Figura 1, fase 8).
 - o. Conservare la soluzione di trasferimento Pro K ricostruita a 2 °C – 8 °C per un periodo massimo di 30 giorni. Non congelare.
 - p. Smaltire la soluzione di trasferimento Pro K ricostruita dopo 30 giorni o dopo la data di scadenza del kit, a seconda di quale data cada per prima.



3. Preparazione di un kit di reagente soluzione di trasporto Aptima precedentemente ricostituito
 - a. Portare a temperatura ambiente la soluzione di trasporto ricostituita contenente proteinasi K.
 - b. Prima dell'uso miscelare accuratamente capovolgendo il flacone.
4. Aggiunta dei reagenti
 - a. Collocare la rastrelliera delle provette di trasporto dei campioni Aptima contenenti i campioni per citologia in fase liquida SurePath sulla superficie di lavoro coperta.
 - b. Togliere il tappo a una provetta del campione e collocarlo su una superficie di lavoro pulita e coperta, con la filettatura rivolta verso l'alto.

- c. Aggiungere alla provetta del campione 300 µl di soluzione di trasporto ricostituita contenente proteinasi K.
 - d. Rimettere il tappo sulla provetta del campione e capovolgerla delicatamente da 5 a 6 volte per miscelare il contenuto.
 - e. Ripetere le fasi da b a d per le provette dei campioni rimanenti.
5. Trattamento dei campioni
- a. Preparare un bagnomaria a 90 °C. Per riscaldare il bagnomaria è possibile utilizzare il relativo coperchio che tuttavia va rimosso durante l'incubazione. Coprire la superficie del bagnomaria con le apposite sfere che consentiranno di isolare la superficie durante l'incubazione.
- Nota** - se il coperchio del bagnomaria non viene rimosso durante la fase di incubazione, i tappi delle provette di trasporto dei campioni Aptima potrebbero danneggiarsi.
- b. Collocare all'interno del bagnomaria la rastrelliera delle provette dei campioni contenenti la soluzione di trasporto ricostituita con proteinasi K. Il livello dell'acqua nel bagnomaria deve raggiungere il livello del liquido nelle provette dei campioni.
 - c. Incubare le provette dei campioni per 15 minuti.
 - d. Togliere le provette dei campioni dal bagnomaria e farle raffreddare a temperatura ambiente.
 - e. I campioni trattati possono essere conservati tra 2 °C e 8 °C fino a 17 giorni prima di essere analizzati con l'Aptima HPV assay e con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay.

Note procedurali sui campioni di tamponi da lesioni VTM

- A. Preparazione dell'area di trasferimento dei campioni
1. Indossare guanti senza talco puliti.
 2. Passare sulle superfici di lavoro e sui pipettatori una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5% – 3,5% (0,35 M – 0,5 M).
 3. Lasciare la soluzione di ipoclorito di sodio a contatto con le superfici di lavoro e i pipettatori per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua deionizzata. Asciugare le superfici con panni di carta puliti.
 4. Coprire il banco con teli da banco di laboratorio puliti, assorbenti e plastificati.
 5. Nell'area di trasferimento dei campioni, posizionare un rack per provette di test contenente un numero sufficiente di provette di trasferimento dei campioni Aptima corrispondenti al numero di campioni VTM in fase di test.
 6. Etichettare ogni provetta di trasferimento dei campioni Aptima con il numero di accesso o l'ID campione.
- B. Procedura di trasferimento dei campioni
1. Per ridurre il rischio di contaminare altri campioni, lavorare con un campione VTM alla volta.
 2. Indossare guanti senza talco puliti e collocare i campioni da testare nell'area di trasferimento dei campioni.
 3. Ottenere un campione VTM. Togliere il tappo dalla provetta di trasferimento dei campioni Aptima corrispondente, collocando il tappo sul banco con le filettature rivolte verso l'alto.
 4. Miscelare con vortex il campione VTM da 3 a 10 secondi. Togliere il tappo dalla provetta, collocando il tappo sul banco con le filettature rivolte verso l'alto.
 5. Entro 1 minuto dal vortex, pipettare 0,5 ml del campione VTM nella provetta di trasferimento dei campioni Aptima contenente 2,9 ml di STM.
 6. Smaltire il puntale per pipetta in un contenitore adeguato per rifiuti a rischio biologico.
 7. Richiudere la provetta di trasferimento dei campioni Aptima ermeticamente. Capovolgere con attenzione 2 o 3 volte la provetta per assicurare la completa miscelazione del campione.
 8. Richiudere la provetta contenente il campione VTM restante per la conservazione a ≤ -70 °C se desiderato.
 9. Ripetere le fasi da 3 a 8 per il trasferimento dei campioni successivi. Cambiare i guanti senza talco spesso e in particolar modo se vengono a contatto con i campioni biologici.

Procedura analitica

Testare i campioni ThinPrep, per citologia in fase liquida SurePath o di tamponi da lesioni VTM dalla provetta di trasferimento dei campioni Aptima secondo le istruzioni riportate nel foglietto illustrativo del dosaggio Aptima appropriato.

Nota - I campioni per citologia in fase liquida SurePath trasferiti in una provetta di trasporto dei campioni Aptima devono subire un pre-trattamento prima di essere analizzati con l'Aptima HPV assay e con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay. Per ulteriori dettagli, consultare i foglietti illustrativi dell'Aptima HPV assay e dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay.

Istruzioni per la decontaminazione

Nota - Se i campioni per citologia in fase liquida ThinPrep vengono trasferiti in provette di trasferimento dei campioni Aptima dopo il trattamento con il ThinPrep 2000 System, il ThinPrep 2000 System deve essere decontaminato dopo 8 ore di utilizzo.

- È importante pulire il sistema dalla sommità fino al fondo della macchina e cambiarsi i guanti come indicato per prevenire la ricontaminazione delle superfici pulite.
- Durante questo processo, evitare di toccare i circuiti elettrici interni della strumentazione.
- Per la decontaminazione del ThinPrep 2000 System usare esclusivamente una soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5%.

A. Decontaminazione del ThinPrep 2000 System

1. Indossare dei guanti puliti.
2. Inumidire una salvietta monouso priva di lanugine con una soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5%.
3. Aprire lo sportello del vano portacampioni, pulire il supporto per il vetrino con la salvietta monouso e gettare la salvietta.
4. Chiudere lo sportello del vano portacampioni.
5. Spostare i meccanismi interni del sistema nella posizione di manutenzione premendo i tasti **7** e **2** e poi il tasto **Enter** (Invio) sul tastierino.
6. Aprire lo sportello del vano portacampioni.
7. Indossare dei guanti puliti.
8. Inumidire una salvietta monouso priva di lanugine con una soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5% e passare le superfici dall'alto verso il basso. Accertarsi di aver pulito accuratamente le superfici che vengono toccate durante il trattamento quali, ad esempio, il supporto per il vetrino, il supporto per il bagno fissativo e il supporto per la fiala del campione. Accertarsi inoltre di aver pulito la guarnizione del cappuccio e la parte interna dello sportello del sistema. Gettare la salvietta.
9. Cambiarsi i guanti. Utilizzando una salvietta monouso priva di lanugine inumidita con la soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5%, pulire le parti esterne del sistema dall'alto verso il basso, prestando particolare attenzione alla maniglia dello sportello e al tastierino. Gettare la salvietta.
10. Lasciare agire la soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5% sulle apparecchiature per 5 minuti.
11. Riportare il sistema nella posizione di funzionamento chiudendo lo sportello del vano portacampioni e premendo **Enter** (Invio) sul tastierino.
12. Cambiarsi i guanti e pulire il supporto per il vetrino utilizzando una salvietta monouso priva di lanugine inumidita con acqua deionizzata. Gettare la salvietta.
13. Chiudere lo sportello del vano portacampioni, quindi premere i tasti **7** e **2** e poi il tasto **Enter** (Invio) sul tastierino per riportare il sistema nella posizione di manutenzione.
14. Aprire lo sportello del vano portacampioni e pulire le parti interne dall'alto verso il basso utilizzando una salvietta monouso priva di lanugine inumidita con acqua deionizzata, avendo cura di rimuovere la soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5% dalla guarnizione del cappuccio. Gettare la salvietta.
15. Ripetere le fasi da 1 a 14 per assicurarsi che la decontaminazione sia completa.

B. Protocollo di monitoraggio della contaminazione in laboratorio

Esistono numerosi fattori specifici del laboratorio che possono contribuire alla contaminazione, tra cui il volume di analisi, il flusso di lavoro, la prevalenza di una malattia e altre attività connesse al laboratorio. Quando si stabilisce la frequenza di monitoraggio della contaminazione è necessario tenere in considerazione questi fattori. Gli intervalli di monitoraggio della contaminazione vanno stabiliti in base alla prassi e alle procedure di ciascun laboratorio. Per poter analizzare i campioni raccolti, ogni laboratorio di citologia deve fare riferimento a un centro di analisi Aptima per il monitoraggio della contaminazione e per ricevere i risultati dei campioni.

Per monitorare la contaminazione in laboratorio durante l'utilizzo dell'Aptima Unisex Swab Specimen Collection Kit (kit di raccolta dei campioni di tamponi unisex) per campioni di tamponi endocervicali e uretrali (maschili), è possibile utilizzare la seguente procedura:

1. Contrassegnare le provette di trasporto dei tamponi con un'etichetta su cui sono riportati i numeri corrispondenti alle aree del laboratorio che verranno analizzate.
2. Estrarre dalla confezione il tampone di raccolta del campione (tampone con bastoncino blu e stampa verde), inumidire il tampone nel terreno di trasporto e strisciare il tampone sull'area numerata con movimento circolare.
3. Inserire immediatamente il tampone nella corrispondente provetta di trasporto.
4. Spezzare il bastoncino del tampone in corrispondenza della linea indicatrice. Facendo attenzione a non disperdere il materiale prelevato.
5. Richiudere bene la provetta di trasporto del tampone.
6. Ripetere le fasi da 2 a 5 per ciascuna area sulla quale va eseguito un tampone.
7. Analizzare il tampone con l'Aptima assay appropriato seguendo le indicazioni della sezione *Procedura analitica* riportate nel foglietto illustrativo del relativo test.

Se i risultati sono positivi o equivoci (vedere la sezione *Interpretazione del test* riportata nel foglietto illustrativo del relativo test), la superficie potrebbe essere contaminata ed è necessario decontaminarla utilizzando una soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5% come indicato nel Manuale dell'operatore e/o nel foglietto illustrativo del test.

Studio sulla contaminazione dei campioni per citologia in fase liquida ThinPrep relativo all'Aptima Combo 2 Assay

Per dimostrare che l'immersione del cappuccio del filtro in una soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5% ("trattamento con candeggina") è efficace nel ridurre la contaminazione, 200 campioni negativi e 200 campioni positivi per GC ad alto titolo ($> 1 \times 10^6$ UFC/ml) sono stati trattati alternativamente prima senza le fasi in candeggina e successivamente con le fasi in candeggina. I campioni positivi per GC sono stati ottenuti aggiungendo al campione per citologia in fase liquida equivalenti cellulari di $> 5 \times 10^6$ fg di rRNA di GC. Gli operatori hanno cambiato i guanti durante la manipolazione tra un campione e l'altro, sia nella prima che nella seconda parte dello studio. Per tutti e 400 i campioni è stato utilizzato lo stesso cappuccio del filtro. Dopo il trattamento sul ThinPrep 2000 System, 1 ml di campione ThinPrep residuo è stato trasferito nella provetta di trasferimento del campione Aptima (tale campione verrà di seguito indicato come campione per citologia in fase liquida trattato) e successivamente analizzato con l'Aptima Combo 2 assay. Queste condizioni riproducono i processi che si prevede vengano condotti in un tipico ambiente clinico.

Inoltre, prima di avviare il trattamento sul ThinPrep 2000 System, da ciascun campione è stata tolta un'aliquota da utilizzare come controllo. Questa aliquota è stata analizzata quando un campione ha prodotto un risultato falso positivo per stabilire se la contaminazione è avvenuta prima del trattamento del campione. Inoltre, alla fine della seconda parte dello studio, sono stati aggiunti altri 20 campioni negativi per citologia in fase liquida ThinPrep per stabilire se una crescita di cellule nel sistema (forse dovuta alla creazione di aerosol) possa aver contaminato i campioni negativi.

Senza la fase con candeggina si sono ottenuti 24 risultati falsi positivi e 17 risultati equivoci tra i campioni ThinPrep per un frequenza di falsi positivi del 20,5%. Quando il cappuccio del filtro è stato pulito con candeggina durante il trattamento tra un campione e l'altro, la frequenza dei falsi positivi è stata dell'1,4% (3 falsi positivi su 220 campioni negativi). Nessuna delle aliquote dei campioni pre-trattate da cui si sono ottenuti risultati falsi era positiva a GC. Tale osservazione è coerente con l'ipotesi secondo la quale la contaminazione non è stata introdotta prima del trattamento del campione sul ThinPrep 2000 System; ma è stata introdotta verosimilmente durante l'analisi citologica.

Questi studi dimostrano che l'inserimento di un protocollo per l'attenuazione della contaminazione riduce il potenziale di contaminazione crociata introdotto dalle fasi di trattamento del ThinPrep 2000 System di un fattore superiore a 14.

Studio sulla contaminazione dei campioni per citologia in fase liquida ThinPrep relativo all'Aptima HPV Assay

Studio sul ThinPrep 2000 System

È stato condotto uno studio per determinare la percentuale di falsi positivi osservata con l'Aptima HPV assay quando sul ThinPrep 2000 System sono stati trattati alternativamente campioni per citologia in fase liquida ThinPrep contenenti un'elevata concentrazione di cellule aggiunte positive all'HPV e campioni negativi all'HPV.

I campioni negativi sono stati ottenuti aggiungendo 20 ml di soluzione PreservCyt a 3×10^5 cellule in coltura negative all'HPV. Prima di avviare il trattamento sul ThinPrep 2000 System, 1 ml di ciascun campione negativo è stato trasferito in una provetta di trasferimento del campione Aptima per essere utilizzato come controllo negativo "pre-trattato". I campioni positivi all'HPV ad alto titolo sono stati ottenuti aggiungendo $7,5 \times 10^4$ cellule in coltura positive all'HPV 16 e $2,25 \times 10^5$ cellule in coltura negative all'HPV a 20 ml di soluzione PreservCyt. I campioni positivi all'HPV sono stati trattati alternativamente ai campioni negativi all'HPV sul ThinPrep 2000 System in base alle istruzioni per l'uso del ThinPrep 2000 System. Un set di campioni positivi e negativi all'HPV è stato trattato dopo aver eseguito la procedura di pulizia del cappuccio del filtro (come descritto sopra nella *Nota procedurale C*) e un set è stato trattato senza eseguire tale procedura. Dopo il trattamento sul ThinPrep 2000 System, da ciascun campione è stata tolta un'aliquota (campioni post-trattati) che è stata trasferita in una provetta di trasferimento del campione Aptima.

I campioni pre-trattati e post-trattati sono stati analizzati con l'Aptima HPV assay.

È stata calcolata la percentuale di falsi positivi per i controlli negativi pre-trattati, nonché per entrambi i set di campioni negativi post-trattati (con e senza procedura di pulizia), è stato inoltre calcolato l'intervallo di confidenza bilaterale al 95%. Per i campioni negativi post-trattati per i quali è stata eseguita la procedura di pulizia, è stato osservato 1 falso positivo su 120 campioni analizzati, corrispondente a una percentuale dello 0,8% (specificità del 99,2%). Per i campioni negativi post-trattati per i quali non è stata eseguita la procedura di pulizia, sono stati osservati in totale 2 falsi positivi su 119 campioni negativi analizzati, corrispondenti a una percentuale dell'1,7% (specificità del 98,3%). Tutti e tre i campioni con risultati falsi erano negativi per il controllo negativo pre-trattato. La differenza nelle percentuali di falsi positivi non è stata significativa; differenza del -0,85% (intervallo di confidenza al 95%: da -5,16% a 3,00%).

Studio sul ThinPrep 3000 System

È stato condotto uno studio per determinare la percentuale di falsi positivi osservata con l'Aptima HPV assay quando sul ThinPrep 3000 System sono stati trattati alternativamente campioni per citologia in fase liquida ThinPrep contenenti un'elevata concentrazione di cellule aggiunte positive all'HPV e campioni negativi all'HPV.

I campioni negativi sono stati ottenuti aggiungendo 20 ml di soluzione PreservCyt a 3×10^5 cellule in coltura negative all'HPV. Prima di avviare il trattamento sul ThinPrep 3000 System, 1 ml di ciascun campione negativo è stato trasferito in una provetta di trasferimento del campione Aptima per essere utilizzato come controllo negativo "pre-trattato". I campioni positivi all'HPV ad alto titolo sono stati ottenuti aggiungendo 2×10^5 cellule in coltura positive all'HPV 16 e 1×10^5 cellule negative all'HPV a 20 ml di soluzione PreservCyt. I campioni positivi all'HPV sono stati trattati alternativamente ai campioni negativi all'HPV sul ThinPrep 3000 System in base alle istruzioni per l'uso del ThinPrep 3000 System. Dopo il trattamento sul ThinPrep 3000 System, da ciascun campione è stata tolta un'aliquota (campioni post-trattati) che è stata trasferita in una provetta di trasferimento del campione Aptima. I campioni pre-trattati e post-trattati sono stati analizzati con l'Aptima HPV assay.

È stata calcolata la percentuale di falsi positivi per i campioni negativi pre-trattati e post-trattati, nonché l'intervallo di confidenza bilaterale al 95%. I campioni negativi post-trattati hanno fornito un risultato falso positivo (1/120, 0,8%), mentre i campioni negativi pre-trattati non hanno fornito risultati falsi positivi (0/120, 0%).

Studio ThinPrep 5000 Processor con Autoloader (ThinPrep 5000 System)

È stato condotto uno studio per determinare il tasso di falsi positivi osservato con l'Aptima HPV assay quando campioni per citologia in fase liquida ThinPrep contenenti un'alta concentrazione di cellule HPV-positive addizionate sono stati alternativamente trattati con campioni HPV-negativi sul ThinPrep 5000 System.

Campioni residui, HPV-negativi, per citologia in fase liquida ThinPrep sono stati raggruppati per creare campioni HPV-negativi. Campioni HPV-positivi sono stati preparati combinando innanzitutto campioni residui per citologia in fase liquida ThinPrep in cinque grandi pool negativi. Cellule HPV 16-positive (SiHa) e cellule HPV 18-positive (HeLa) sono state addizionate insieme nei pool per ottenere una concentrazione di 1×10^4 cellule/ml per ciascuna linea cellulare. I campioni HPV-positivi e quindi HPV-negativi sono stati alternativamente trattati sul ThinPrep 5000 System secondo le istruzioni per l'uso del ThinPrep 5000 System. Un'aliquota di ogni campione è stata rimossa dopo il trattamento sul ThinPrep 5000 System (campioni post-elaborati) e trasferita in una provetta di trasferimento dei campioni Aptima. I campioni pre- e post-trattamento sono stati testati con l'Aptima HPV assay.

È stata calcolata la percentuale di falsi positivi per i campioni negativi pre- e post-trattamento. Ognuno dei campioni negativi pre- e post-trattamento ha determinato un falso positivo (1/250, 0,4%).

Limiti

- A. Le prestazioni dei test Aptima non sono state valutate per l'analisi di uno stesso campione per citologia in fase liquida ThinPrep sia prima sia dopo il trattamento su ThinPrep 2000 System, ThinPrep 3000 System o ThinPrep 5000 Systems.
- B. Campioni per citologia in fase liquida ThinPrep trattati su ThinPrep 3000 System o ThinPrep 5000 Systems non sono stati valutati per l'uso con Aptima Combo 2, Aptima GC e Aptima CT assay.
- C. I campioni citologici liquidi trattati posteriormente non sono stati valutati per l'uso con i test Aptima Trichomonas vaginalis Assay o Aptima Mycoplasma genitalium Assay.
- D. L'Aptima Specimen Transfer Kit è stato valutato utilizzando campioni per citologia in fase liquida ThinPrep prelevati sia con spazzolino per prelievo endocervicale sia mediante campionamento combinato con spatola e cytobrush. L'uso di altri dispositivi di prelievo per i test Aptima non è stato valutato.
- E. L'efficacia della procedura di decontaminazione del ThinPrep 2000 System non è stata valutata relativamente all'impatto sui risultati dell'analisi citologica. Prima di implementare la procedura di decontaminazione, i laboratori dovrebbero convalidarla in modo tale che non influisca sui risultati dell'analisi citologica.
- F. L'uso di questi prodotti è limitato al personale che è stato addestrato a utilizzare l'Aptima Specimen Transfer Kit e/o il kit della soluzione di trasporto Aptima.
- G. Il potenziatore di candeggina Aptima non è stato convalidato per la procedura di decontaminazione del ThinPrep 2000 System.
- H. 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.
- I. Se un campione per citologia in fase liquida contiene piccole quantità di materiale cellulare, tale materiale potrebbe ripartirsi in modo irregolare, influenzando la capacità di individuazione degli organismi bersaglio nel materiale prelevato. Se i risultati negativi derivanti dal campione non rispecchiano l'impressione clinica, potrebbe essere necessario un nuovo campione. Rispetto al campionamento diretto con terreno di trasporto dei tamponi Aptima, il volume aggiuntivo proprio della la soluzione PreservCyt porta ad una maggiore diluizione del materiale del campione.
- J. La raccolta, la conservazione o il trattamento dei campioni effettuati in modo inadeguato possono influire sui risultati del test.



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

EMERGO EUROPE
Molenstraat 15
2513 BH, L'Aia
Paesi Bassi

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

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

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

Hologic, Aptima, Aptima Combo 2, PreservCyt, ThinPrep e TransCyt sono marchi commerciali e/o marchi commerciali registrati di Hologic, Inc. e/o delle aziende consociate negli Stati Uniti e/o in altri paesi.

FISHERBRAND e BLOODBLOC sono marchi commerciali di Fisher Scientific.

RAININ è un marchio commerciale di Rainin Instrument, LLC.

SUREPATH è un marchio commerciale di TriPath Imaging, Inc.

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

©2005-2016 Hologic, Inc. Tutti i diritti riservati.

AW-11586-701 Rev. 001
2016-08