

Aptima HPV Assay

Pour diagnostic *in vitro*.

Réservé à l'exportation hors États-Unis.

Informations générales	2
Usage prévu	2
Résumé et explication du test	2
Principes de la procédure	3
Avertissements et précautions	4
Conditions de conservation et de manipulation des réactifs	6
Collecte et conservation des échantillons	7
Procédures de contrôle de qualité	32
Interprétation des tests	33
Limites	34
Performance du test avec les DTS Systems	36
Résultats escomptés avec le Tigris DTS System : prévalence des ARNm (ARN Messenger) des HPV à haut risque	45
Conception de l'étude sur l'essai clinique portant sur le Aptima HPV Assay avec les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep.	46
Performances du test sur Tigris DTS System	48
Résultats escomptés avec le Panther Système : prévalence des mRNA (Messenger RNA) des HPV haut risque	77
Conception de l'étude clinique portant sur le Aptima HPV Assay avec les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep	78
Performance du test sur Panther System	80
Bibliographie	105

DTS™ Systems

DTS Systems	10
Réactifs et matériels fournis	10
Matériel requis mais disponible séparément	11
Matériel optionnel	12
Procédure de test avec les DTS Systems	12
Remarques concernant la procédure	18

Panther™ Système

Panther Système	26
Réactifs et matériels fournis	26
Matériel requis mais disponible séparément	27
Matériel optionnel	28
Procédure de test pour le Panther Système	28
Remarques concernant la procédure	30

Tigris™ DTS System

Tigris DTS System	20
Réactifs et matériels fournis	20
Matériel requis mais disponible séparément	21
Matériel optionnel	22
Procédure de test pour le Tigris DTS System	22
Remarques concernant la procédure	25

Informations générales

Usage prévu

Le Aptima HPV assay (test Aptima HPV assay) est un test d'amplification de cible utilisant des sondes d'acides nucléiques pour la détection qualitative in vitro d'ARN messagers (ARNm) viraux E6/E7 de 14 types de Papillomavirus humains (HPV) à haut risque. (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68). Le Aptima HPV assay ne fait pas la différence entre les 14 types à haut risque.

- Le Aptima HPV assay est prévu pour le dépistage chez des patientes ayant des résultats de frottis cytologiques de type ASC-US (atypie des cellules malpighiennes de signification indéterminée) afin de déterminer si elles ont besoin d'une colposcopie. Les résultats de ce test ne sont pas destinés à empêcher les femmes de subir une colposcopie.
- Le Aptima HPV assay peut être utilisé conjointement avec une cytologie cervicale (co-test) pour le dépistage et ainsi évaluer la présence ou l'absence d'HPV à haut risque. Ces informations associées à l'évaluation des antécédents cytologiques par le médecin, à d'autres facteurs de risques et aux consignes professionnelles, pourront être utilisées pour aider la prise en charge de la patiente.
- Le Aptima HPV assay peut être utilisé en dépistage primaire, avec ou sans cytologie cervicale, pour identifier les patientes ayant un risque de développer un cancer du col ou d'être atteinte d'une maladie de col de grade élevé. Ces informations associées à l'évaluation des antécédents de dépistage par le médecin, à d'autres facteurs de risques et aux consignes professionnelles, pourront être utilisées pour aider la prise en charge de la patiente.

Des échantillons cervicaux prélevés dans des flacons ThinPrep™ Pap test contenant de la solution PreservCyt™ peuvent être testés avec le Aptima HPV assay avant ou après le test de cytologie (Pap test), ainsi que des échantillons cervicaux prélevés avec le kit de collecte et de transport Aptima pour échantillon cervical. Le test peut être utilisé pour analyser ces types d'échantillons avec les systèmes d'échantillonnage direct en tube (Direct Tube Sampling Systems, DTS Systems), le Tigris DTS System ou le Panther Système. Les échantillons cervicaux recueillis dans le milieu de cytologie liquide SurePath peuvent être utilisés avec le Aptima HPV assay sur le Tigris DTS System et le Panther System.

Résumé et explication du test

Le cancer du col de l'utérus est l'un des cancers les plus courants chez les femmes de tous les pays. Le virus HPV est l'agent étiologique responsable de plus de 99 % de l'ensemble des cancers du col de l'utérus.^{1, 2, 3} Le HPV est un virus à DNA (Acide désoxyribonucléique) couramment transmis par voie sexuelle, qui comporte plus de 100 génotypes.⁴

Le génome viral du HPV est un DNA (Acide désoxyribonucléique) circulaire à double brin long d'environ 7900 paires de base. Ce génome présente huit cadres de lecture ouverts (open reading frames) qui se chevauchent. On dénombre six gènes précoces (E), deux gènes tardifs (L) et une longue région de contrôle non transcrite. Les gènes L1 et L2 codent les protéines principales et secondaires de la capsid. Les gènes précoces régulent la réplication du virus HPV. Les gènes E6 et E7 des génotypes High-Risk HPV sont des oncogènes connus. Les protéines exprimées par le mRNA (Messenger RNA) polycistronique E6/E7 altèrent les fonctions de la protéine du rétinoblastome et de la p53 cellulaire, ce qui

entraîne une perturbation des points de contrôle du cycle cellulaire et une instabilité du génome cellulaire.^{5, 6}

Quatorze génotypes HPV sont considérés comme étant pathogènes ou à haut risque pour les maladies du col de l'utérus.⁷ Plusieurs études ont associé les génotypes 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68 à la progression de la maladie.^{2, 5, 8} Les patientes avec une infection persistante par un de ces types ont un risque plus élevé de développement d'une dysplasie sévère ou de cancer du col de l'utérus.^{7, 9}

Les infections au HPV sont très courantes et disparaissent en 6 à 12 mois chez la plupart des femmes.^{8, 10} La présence de l'acide nucléique du HPV ne signifie pas obligatoirement la présence d'une dysplasie cervicale ou d'un cancer du col utérin. Cependant, une approche efficace de détection des maladies du col de l'utérus consiste à cibler les éléments oncogènes du HPV qui favorisent une infection virale persistante et une transformation cellulaire.³

Performances cliniques du Aptima HPV assay dans le dépistage primaire du cancer cervical

Les performances cliniques du Aptima HPV assay, dans le cadre de dépistage primaire, ont été examinées dans plusieurs études par des experts indépendants. Treize publications révisées par des pairs^{11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23} dans dix études cliniques distinctes, décrivent les performances du test Aptima HPV en dépistage primaire, chez des femmes originaires de neuf pays différents (Chine, Canada, France, Mexique, Angleterre, Danemark, Pays-Bas, États-Unis et Allemagne). Les données issues de ces études indiquent que le test Aptima HPV enregistre des performances cliniques similaires à d'autres tests HPV cliniquement validés dans le cadre de dépistage primaire pour le pré-cancer et le cancer cervicaux.

Principes de la procédure

Le HPV Aptima assay implique trois étapes principales, qui se déroulent dans un seul tube : capture de cible, amplification de la cible médiée par la transcription (Transcription-Mediated Amplification, TMA),²⁴ et détection des produits d'amplification (amplicons) grâce au test de protection de l'hybridation (Hybridization Protection Assay, HPA).²⁵ Le test contient un contrôle interne (Internal Control, IC) permettant de vérifier la capture de l'acide nucléique, l'amplification et la détection et de repérer d'éventuelles erreurs de l'opérateur ou de l'appareil.

Les échantillons sont recueillis ou transférés dans un tube contenant un milieu pour transport des échantillons (specimen transport media, STM) qui lyse les cellules, libère le mRNA (Messenger RNA) et l'empêche de se dégrader pendant le stockage. Lorsque le Aptima HPV assay est effectué, le mRNA (Messenger RNA) cible est isolé de l'échantillon au moyen d'oligomères de capture qui sont liés à des microparticules magnétiques. Les oligomères de capture contiennent les séquences complémentaires à des régions précises des molécules cibles du mRNA (Messenger RNA) du HPV ainsi qu'une chaîne de résidus de déoxyadénosine. Lors de l'étape d'hybridation, les régions spécifiques de la séquence des oligomères de capture se fixent sur des régions précises des molécules cibles du mRNA (Messenger RNA) du HPV. Le complexe oligomère de capture/cible est ensuite capturé hors de la solution en ramenant la température de la réaction à température ambiante. Cette réduction de température permet à l'hybridation de se produire entre la région déoxyadénosine de l'oligomère de capture et les molécules poly-désoxythimidines liées par covalence aux particules magnétiques. Les microparticules, y compris les molécules cibles du mRNA (Messenger RNA) du HPV capturées auxquelles elles sont liées, sont attirées sur la paroi du tube réactionnel par des aimants, puis le surnageant est aspiré. Les particules sont lavées afin d'éliminer la matrice résiduelle de l'échantillon, qui peut contenir des inhibiteurs d'amplification.

Une fois la capture de cible terminée, le mRNA (Messenger RNA) du HPV est amplifié via la TMA, une méthode d'amplification de l'acide nucléique basée sur la transcription qui utilise deux enzymes : la transcriptase inverse MMLV et l'ARN polymérase T7. La transcriptase inverse sert à générer une copie d'ADN de la séquence de l'ARNm cible contenant une séquence promoteur de l'ARN polymérase T7. L'ARN polymérase produit de multiples copies d'amplicons ARN à partir de la matrice ADN.

La détection de l'amplicon s'effectue au moyen du test HPA avec des sondes d'acide nucléique simple brin à marqueurs chimiluminescents qui sont complémentaires de l'amplicon. Les sondes d'acide nucléique marquées s'hybrident spécifiquement à l'amplicon. Le réactif de sélection différencie les sondes hybridées de celles qui ne le sont pas en désactivant le marqueur sur les sondes non hybridées. Lors de l'étape de détection, la lumière émise par les hybrides RNA (Acide ribonucléique):DNA (Acide désoxyribonucléique) marqués est mesurée, dans un luminomètre, sous la forme de signaux de photons nommés unités relatives de lumière (Relative Light Units, RLU). Les résultats finaux du test sont interprétés en s'appuyant sur le signal d'analyte divisé par le seuil (signal-to-cutoff, S/CO).

Un IC est ajouté à chaque réaction par le biais du réactif de capture de cible. Le IC vérifie les étapes de capture de cible, d'amplification et de détection du test. Le signal du IC de chaque réaction est différencié du signal du HPV grâce aux cinétiques différentielles de l'émission lumineuse produite par les sondes dotées de marqueurs différents.²⁶ L'amplicon spécifique du IC est détecté à l'aide d'une sonde à émission rapide de lumière (signal éclair). L'amplicon spécifique du HPV est détecté à l'aide de sondes dont les cinétiques d'émission de lumière sont relativement plus longues (signal brillant). Le double test cinétique (Dual Kinetic Assay, DKA) est une méthode utilisée pour différencier les signaux des marqueurs à signal éclair de ceux à signal brillant.²⁶

Avertissements et précautions

- A. Pour diagnostic *in vitro*.
- B. Pour tout avertissement et précaution spécifique supplémentaire, consultez les manuels de l'opérateur des DTS Systems, du Tigris DTS System et du Panther System.

Recommandations concernant les laboratoires

- C. N'utilisez que le matériel de laboratoire jetable fourni ou recommandé.
- D. Prenez les précautions de laboratoire habituelles. Il est interdit de manger, de boire ou de fumer dans les zones de travail signalées. Portez des gants jetables sans poudre, des lunettes de protection et des blouses de laboratoire pour manipuler les échantillons et les réactifs du kit. Lavez-vous bien les mains après avoir manipulé les échantillons et les réactifs du kit.
- E. **Avertissement : Substances irritantes et corrosives** : Évitez tout contact d'Auto Detect 1 et Auto Detect 2 avec la peau, les yeux et les muqueuses. En cas de contact de ces liquides avec la peau ou les yeux, lavez la zone affectée à l'eau. En cas de déversement de ces liquides, diluez le produit répandu à l'eau avant de l'essuyer.
- F. Les plans de travail, les pipettes et les autres matériels doivent être régulièrement décontaminés avec une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Veuillez consulter les procédures de test avec les DTS Systems, le *Tigris DTS System* ou le *Panther System* pour de plus amples informations.

Recommandations spécifiques aux DTS Systems

- G. Pour éviter la contamination des différentes zones du laboratoire par l'amplicon, le sens de travail du laboratoire devra être unidirectionnel depuis la préparation des réactifs jusqu'à la détection. Les échantillons, le matériel et les réactifs ne doivent pas être ramenés là où une étape précédente a été effectuée. De la même manière, le personnel ne devra pas retourner dans les zones de travail des étapes précédentes sans s'entourer de précautions adéquates pour éviter toute contamination. Il est fortement recommandé d'utiliser une zone à part pour la détection.

Recommandations concernant les échantillons

- H. Observez des conditions de température adéquates pendant le transport et la conservation des échantillons afin de préserver leur intégrité. La stabilité des échantillons dans des conditions de transport et de conservation autres que celles recommandées n'a pas été évaluée.
- I. Les dates de péremption figurant sur les kits et les tubes de collecte/transfert d'échantillon s'adressent au site de collecte/transfert, et non à l'établissement effectuant les tests. Les échantillons collectés/transférés avant ces dates de péremption sont valides pour des tests dans la mesure où ils ont été transférés et conservés conformément à la notice de test correspondante, même si ces dates de péremption sont dépassées depuis lors.
- J. Les échantillons peuvent être infectieux. Respectez les précautions universelles lors de la réalisation de ce test. Le responsable du laboratoire devra avoir établi des méthodes de manipulation et d'élimination des déchets adéquates. Seul le personnel ayant reçu une formation adéquate pour manipuler des substances infectieuses devra être autorisé à effectuer cette procédure de diagnostic.
- K. Évitez toute contamination croisée lors des étapes de manipulation des échantillons. Veillez à éviter tout contact entre les différents récipients d'échantillons et à ne pas passer au-dessus d'un récipient ouvert en jetant le matériel usagé. Changez de gants en cas de contact avec l'échantillon.
- L. Si le bouchon d'un tube vient à être perforé, le liquide peut s'écouler sous certaines conditions. Veuillez consulter *Procédure de test avec les DTS Systems, Procédure de test pour le Tigris DTS System* ou *Procédure de test pour le Panther System* pour de plus amples informations.
- M. Les échantillons recueillis dans des kits de prélèvements et de transports des échantillons cervicaux (Cervical Specimen Collection and Transport, CSCT) et les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep doivent être rejetés si un dispositif de prélèvement est resté dans le tube d'échantillon.
- N. Les échantillons cytologiques en milieu liquide SurePath doivent être rejetés en cas d'absence de dispositif de prélèvement dans le flacon.

Recommandations concernant les tests

- O. Conservez les réactifs aux températures indiquées. Les résultats du test peuvent être affectés par l'utilisation de réactifs mal conservés.
- P. Évitez de contaminer les réactifs par des microbes ou des ribonucléases.

- Q. N'utilisez pas le kit de réactifs après sa date de péremption.
- R. Veuillez ne pas échanger, mélanger ou combiner les réactifs de test ou les calibrateurs issus de kits portant des numéros de lots différents.
- S. Les liquides des tests Aptima, les réactifs Auto Detect Aptima, le conservateur de liquide système Aptima (DTS Systems et Tigris DTS System uniquement) et les contrôles de l'Aptima HPV assay (DTS Systems et Tigris DTS System uniquement) ne font pas partie du lot de référence ; un lot quelconque peut donc être utilisé.
- T. Il est nécessaire de mélanger soigneusement les réactifs du kit pour obtenir des résultats précis.
- U. Des embouts de pipette munies de filtres hydrophobes doivent être utilisées.

Recommandations spécifiques aux DTS Systems

- V. Au moins deux pipeteurs à répétition doivent être dédiés uniquement à ce test : un pour les étapes de **capture de cible** et d'**amplification** et l'autre pour les étapes **post-amplification**.
- W. Si vous utilisez des pipeteurs à répétition pour ajouter des réactifs, ne touchez pas le tube avec l'embout de la pipette afin d'éviter toute contamination d'un tube à l'autre.
- X. Tous les pipeteurs doivent être régulièrement nettoyés tel que décrit dans les *Remarques concernant la procédure*.
- Y. Il faut au moins deux appareils SB100™ distincts, l'un pour la capture de cible/amplification et l'autre pour la post-amplification.
- Z. NE RÉUTILISEZ PAS les cartes de protection. Utilisez de nouvelles cartes de protection pour chaque étape.

Conditions de conservation et de manipulation des réactifs

Veuillez ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption inscrite sur les flacons. Consultez les informations ci-dessous pour obtenir des instructions de conservation supplémentaires.

- A. Les réactifs suivants se conservent entre 2 °C et 8 °C (réfrigération) dès leur réception :
 - Réactif d'amplification HPV
 - Réactif enzymatique HPV
 - Réactif-sonde HPV
 - Réactif de contrôle interne HPV
 - Calibrateurs HPV positifs et calibrateurs HPV négatifs
 - Contrôles positifs HPV et contrôles négatifs HPV (DTS System et Tigris DTS System uniquement)
- B. Les réactifs suivants se conservent entre 15 °C et 30 °C (à température ambiante) :
 - Solution de reconstitution de réactif d'amplification HPV
 - Solution de reconstitution de réactif enzymatique HPV

- Solution de reconstitution de réactif-sonde HPV
 - Réactif de capture de cible HPV
 - Réactif de sélection HPV
 - Solution de lavage
 - Réactif huileux
 - Tampon pour solution de désactivation
 - Réactif Auto Detect 1
 - Réactif Auto Detect 2
 - Conservateur de liquide système Aptima (Tigris DTS System uniquement)
- C. Après reconstitution, les réactifs suivants restent stables pendant 30 jours lorsqu'ils sont conservés entre 2 °C et 8 °C :
- Réactif d'amplification HPV
 - Réactif enzymatique HPV
 - Réactif-sonde HPV
- D. Le réactif de capture de cible (working Target Capture Reagent, wTCR) est stable pendant 30 jours lorsqu'il est conservé entre 15 °C et 30 °C. Ne pas réfrigérer.
- E. Jetez tous les réactifs reconstitués et le wTCR non utilisés après 30 jours ou après la date de péremption du lot de référence, la première échéance prévalant.
- F. Les réactifs du Aptima HPV assay sont stables pendant 48 heures cumulées quand ils sont conservés à bord du Tigris DTS System.
- G. Les réactifs du Aptima HPV assay sont stables pendant 72 heures cumulées quand ils sont conservés à bord du Panther System.
- H. Le réactif-sonde et le réactif-sonde reconstitué sont photosensibles. Conservez les réactifs à l'abri de la lumière.
- I. Ne congelez pas les réactifs.

Collecte et conservation des échantillons

A. Recueil et traitement des échantillons

Échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep

1. À l'aide de dispositifs de recueil de type balai ou brosse cytologique/spatule, recueillez les échantillons cervicaux dans des flacons de test ThinPrep Pap contenant de la solution PreservCyt, conformément aux instructions du fabricant.
2. Avant ou après le traitement avec le ThinPrep 2000 System, le ThinPrep 3000, le ThinPrep 5000 Processor ou le ThinPrep 5000 Processor avec auto-chargeur, transférez 1 ml de l'échantillon cytologique en milieu liquide ThinPrep dans un tube de transfert d'échantillons Aptima, conformément à la notice du kit de transfert d'échantillons Aptima.

Échantillons de cytologie en milieu SurePath (Tigris DTS System et Panther System uniquement)

1. Recueillez un échantillon cytologique en milieu liquide SurePath conformément aux instructions d'utilisation du test SurePath Pap et/ou du PrepStain System.
2. Transférer l'échantillon de cytologie en milieu liquide SurePath dans un tube de transfert d'échantillons Aptima conformément aux instructions de la notice du kit de transfert d'échantillons Aptima.

Échantillons de kit de collecte et de transport Aptima pour échantillon cervical

Recueillez l'échantillon conformément aux instructions d'utilisation du kit CSCT Aptima.

B. Transport et conservation des échantillons avant la réalisation du test

Échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep

1. Transportez les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep entre 2 °C et 30 °C.
2. Les échantillons doivent être transférés dans un tube de transfert d'échantillons Aptima dans les 105 jours suivant le recueil.
3. Avant le transfert, les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep doivent être conservés entre 2 °C et 30 °C, pendant 30 jours maximum à des températures supérieures à 8 °C.
4. Les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep transférés dans un tube de transfert d'échantillons Aptima peuvent être conservés entre 2 °C et 30 °C pendant 60 jours maximum.
5. Si une durée de conservation supérieure est nécessaire, il est possible de conserver l'échantillon cytologique en milieu liquide ThinPrep, en l'état ou dilué dans le tube de transfert d'échantillons, à -20 °C, ou à des températures plus froides, pendant 24 mois maximum.

Échantillons de cytologie en milieu SurePath (Tigris DTS System et Panther System uniquement)

1. Transportez les échantillons cytologiques en milieu liquide SurePath entre 2 °C et 25 °C.
2. Les échantillons doivent être transférés dans un tube de transfert d'échantillons Aptima dans les 7 jours suivant le recueil.
3. Avant le transfert, les échantillons cytologiques en milieu liquide SurePath doivent être conservés entre 2 °C et 25 °C.
4. Les échantillons cytologiques en milieu liquide SurePath transférés dans un tube de transfert d'échantillons Aptima peuvent être conservés entre 2 °C et 25 °C pendant 7 jours maximum.

Échantillons de kit de collecte et de transport Aptima pour échantillon cervical

1. Transportez et conservez les échantillons entre 2 °C et 30 °C pendant 60 jours maximum.
2. Si une durée de conservation supérieure est nécessaire, les échantillons du kit de transport peuvent être conservés à -20 °C, ou plus froid, pendant 24 mois maximum.

C. Échantillons de cytologie en milieu SurePath (Tigris DTS System et Panther System uniquement)

Remarque : Les échantillons de cytologie en milieu SurePath doivent être traités avec la solution de transfert Aptima avant d'être testés à l'aide du kit Aptima HPV assay.

1. Solution de transfert Aptima (Tigris DTS System et Panther Système uniquement)

Les échantillons traités peuvent être conservés entre 2 °C et 8 °C pendant 17 jours maximum avant d'être testés avec le Aptima HPV assay. Consulter la notice du kit de transfert d'échantillons Aptima pour obtenir de plus amples détails.

D. Conservation des échantillons après la réalisation du test

1. Les échantillons qui ont été testés doivent être rangés dans un portoir en position verticale.
2. Les tubes d'échantillons doivent être recouverts avec une nouvelle barrière de plastique ou d'aluminium propre.
3. Si certains des échantillons testés doivent être congelés ou envoyés, retirez les bouchons pénétrables et placez de nouveaux bouchons non pénétrables sur les tubes d'échantillons. Si les échantillons doivent être envoyés dans un autre établissement pour y être testés, les températures spécifiées doivent être maintenues. Avant de déboucher des échantillons qui ont déjà été testés et rebouchés, les tubes d'échantillon doivent être centrifugés pendant 5 minutes à 420 FCR (force centrifuge relative) pour faire descendre la totalité du liquide au fond du tube.

Remarque : *Le transport des échantillons doit s'effectuer conformément aux réglementations nationale et internationale applicables en matière de transport.*

DTS Systems

Les réactifs du Aptima HPV assay sont indiqués ci-dessous pour les DTS Systems. Les symboles d'identification des réactifs sont également indiqués à côté du nom du réactif.

Réactifs et matériels fournis

Remarque : Pour obtenir des informations sur les mentions de danger et de mise en garde qui pourraient être associées à ces réactifs, consultez la Safety Data Sheet Library (Bibliothèque des fiches techniques de sécurité) à l'adresse www.hologic.com/sds.

Kit de Aptima HPV assay, 100 tests, n° de réf. 302610 (4 boîtes)

Les calibrateurs et les contrôles peuvent être achetés séparément. Voir les références individuelles des boîtes ci-dessous.

Boîte réfrigérée HPV Aptima (conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
A	Réactif d'amplification HPV <i>Acides nucléiques non infectieux déshydratés dans une solution tamponnée contenant < 5 % de diluant.</i>	1 flacon
E	Réactif enzymatique HPV <i>Transcriptase inverse et polymérase du RNA (Acide ribonucléique) déshydratées dans une solution tamponnée HEPES contenant < 10 % de réactif diluant.</i>	1 flacon
P	Réactif-sonde HPV <i>Sondes DNA (Acide désoxyribonucléique) chimiluminescentes non infectieuses (< 500 ng/flacon) déshydratées dans une solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.</i>	1 flacon
IC	Réactif de contrôle interne HPV <i>Transcrit de RNA (Acide ribonucléique) non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.</i>	1 flacon

Boîte à température ambiante HPV Aptima (conserver entre 15 °C et 30 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
AR	Solution de reconstitution de réactif d'amplification HPV <i>Solution aqueuse contenant des conservateurs.</i>	1 flacon
ER	Solution de reconstitution de réactif enzymatique HPV <i>Solution tamponnée HEPES contenant un surfactant et du glycérol.</i>	1 flacon
PR	Solution de reconstitution de réactif-sonde HPV <i>Solution tamponnée de succinate contenant < 5% de détergent.</i>	1 flacon
S	Réactif de sélection HPV <i>Solution tamponnée de borate à 600 mM contenant un surfactant.</i>	1 flacon

**Boîte à température ambiante HPV Aptima
(conserver entre 15 °C et 30 °C dès réception)**

Symbole	Composant	Quantité
TCR	Réactif de capture de cible HPV <i>Acide nucléique non infectieux dans une solution tamponnée contenant une phase solide (< 0,5 mg/ml).</i>	1 flacon
	Cartes de protection	1 paquet
	Collets de reconstitution	3

**Boîte de calibrateurs Aptima HPV (N° de réf. 302554)
(conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)**

Symbole	Composant	Quantité
PCAL	Calibrateur HPV positif <i>Transcrit in vitro de HPV 16 non infectieux à la concentration de 1000 copies par ml dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.</i>	5 flacons
NCAL	Calibrateur HPV négatif <i>Solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.</i>	5 flacons

**Boîte de contrôles Aptima HPV (N° de réf. 302556)
(conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)**

Symbole	Composant	Quantité
PC	Contrôle HPV positif <i>Cellules de culture HPV négatives et positives, lysées et inactivées, à 25 cellules par ml, dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.</i>	5 flacons
NC	Contrôle HPV négatif <i>Cellules de culture HPV négatives, lysées et inactivées, dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.</i>	5 flacons

Matériel requis mais disponible séparément

Remarque : Les références du matériel disponible chez Hologic sont indiquées, sauf indication contraire.

	<u>N° de référence</u>
Luminomètre Leader™ HC+	104747
Système de capture de cible (Target Capture System, TCS) Hologic	104555
2 bains à chaleur sèche/vortexeurs SB100	105524F
Kit Auto Detect Aptima	301048C
Kit de liquides pour tests Aptima	302002C
Micro-pipeteur, 1000 µL RAININ PR1000	104216
2 pipeteurs à répétition eppendorf Repeater Plus	105725
Embouts de pipeteur à répétition (2,5 ml, 5,0 ml, 25,0 ml)	—
Embouts, 1000 µL P1000	105049
<i>Embouts à diamètre spécial, disponibles uniquement auprès de Hologic</i>	
Unités de dix tubes (TTU)	TU0022

Portoir pour TTU	104579
Cassette de dix embouts (TTC, Ten Tip Cassettes)	104578
Kit de transfert d'échantillon Aptima	301154C
Kit de collecte et de transport Aptima pour échantillon cervical	302657
Eau de javel (solution d'hypochlorite de sodium à 5 % ou 0,7 M minimum)	—
Gants jetables	—
Bouchons pénétrables Aptima	105668
Bouchons non pénétrables de remplacement	103036A

Matériel optionnel

	<u>N° de référence</u>
Appareil TECAN Freedom EVO 100/4	900932
Assemblage de plaque de plateau Aptima, DTS 800	105200
Embouts, 1000 µL conductifs, détecteur de liquide	10612513 (Tecan)
Réservoir à réactif (quart de module de 40 ml)	104765
Réservoir à réactif partagé en deux (quart de module de 19 ml x 2)	901172
Optimiseur d'eau de javel pour nettoyage	302101

Procédure de test avec les DTS Systems

A. Préparation de la zone de travail/du matériel

1. Avant d'entreprendre le test, essuyez les plans de travail et les pipeteurs avec une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laissez la solution au contact des surfaces et des pipeteurs pendant au moins 1 minute avant de rincer à l'eau. Ne laissez pas la solution sécher. Couvrez la surface de la pailasse sur laquelle le test sera effectué avec des protections de laboratoire absorbantes propres avec envers plastifié.
2. Placez un nombre suffisant de cassettes de dix embouts dans le système de capture de cible (Target Capture System, TCS). Vérifiez que le flacon de solution de lavage du TCS est rempli avec la solution de lavage et que la rampe d'aspiration est branchée sur la pompe à vide. Consultez le *Target Capture System Operator's Manual* (Manuel de l'opérateur du système de capture de cible).
3. Préparez l'appareil TECAN Freedom EVO conformément aux instructions du manuel de l'opérateur et de la Fiche d'application HPV.
4. Préparez l'appareil de préamplification SB100 conformément aux instructions du manuel de l'opérateur et de la Fiche d'application HPV. Mettez l'appareil en marche et démarrez le protocole « Aptima HPV PREAMP » (Préamplification HPV Aptima) pour que l'appareil atteigne 62 °C.
5. Une fois l'étape d'amplification terminée, préparez l'appareil de post-amplification SB100 conformément aux instructions du manuel de l'opérateur et de la Fiche d'application HPV. Mettez l'appareil en marche et démarrez le protocole « Aptima HPV PSTAMP » (Post-amplification HPV Aptima) pour que l'appareil atteigne 62 °C.
6. Une fois l'étape d'amplification terminée, préparez le luminomètre Leader HC+ conformément aux instructions du manuel de l'opérateur, après avoir ajouté le réactif-sonde tel qu'indiqué dans les étapes de post-amplification.

B. Reconstitution des réactifs/préparation d'un nouveau kit

Remarque : La reconstitution des réactifs doit être effectuée avant d'entreprendre le transfert des échantillons.

1. Pour reconstituer le réactif d'amplification, le réactif enzymatique et le réactif-sonde Aptima HPV, combinez les flacons de réactif lyophilisé à la solution de reconstitution. Si les solutions de reconstitution sont réfrigérées, laissez leur température s'équilibrer à température ambiante avant de les utiliser :
 - a. Faites correspondre chaque solution de reconstitution avec son réactif lyophilisé. Vérifiez que la solution de reconstitution et le réactif lyophilisé ont des étiquettes de couleur correspondantes avant de mettre en place le collet de reconstitution.
 - b. Ouvrez le flacon de réactif lyophilisé et insérez fermement l'extrémité du collet de reconstitution présentant une encoche dans l'ouverture du flacon (figure 1, étape 1).
 - c. Ouvrez le flacon de solution de reconstitution correspondante et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
 - d. Tout en tenant le flacon de solution sur la paillasse, insérez fermement l'autre extrémité du collet de reconstitution dans l'ouverture du flacon (figure 1, étape 2).
 - e. Inversez lentement l'assemblage des deux flacons. Laissez la solution s'écouler dans le récipient en verre (figure 1, étape 3).
 - f. Faites tourner en douceur la solution dans le flacon pour bien la mélanger. Évitez de faire de la mousse pendant cette manipulation (figure 1, étape 4).
 - g. Attendez que le réactif lyophilisé se mêle à la solution, puis retournez à nouveau l'assemblage des deux flacons en l'inclinant à un angle de 45° pour réduire la formation de mousse (figure 1, étape 5). Laissez la totalité du liquide retourner dans le flacon.
 - h. Retirez le collet de reconstitution et le flacon en verre (figure 1, étape 6).
 - i. Rebouchez le flacon en plastique. Enregistrez les initiales de l'opérateur ainsi que la date de reconstitution sur les flacons de réactif reconstitué (figure 1, étape 7).
 - j. Jetez le collet de reconstitution et le flacon en verre (figure 1, étape 8).

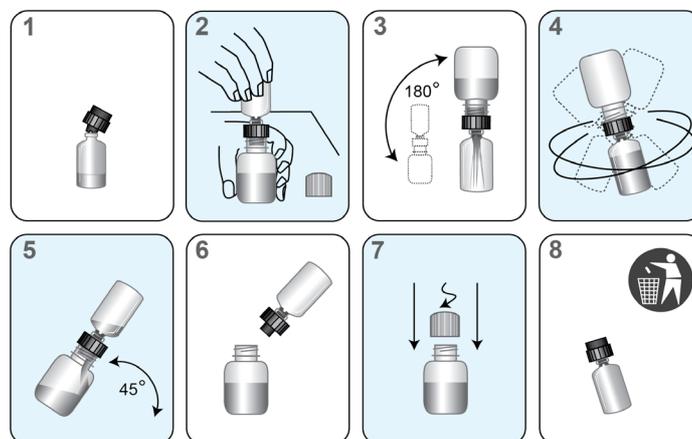


Figure 1. Processus de reconstitution DTS Systems

2. Préparation du réactif de capture de cible prêt à l'emploi (working Target Capture Reagent, wTCR)
 - a. Faites correspondre les flacons appropriés de TCR et de IC.
 - b. Ouvrez le flacon de TCR et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
 - c. Ouvrez le flacon de IC et versez la totalité de son contenu dans un flacon de TCR. Il est possible qu'une petite quantité de liquide reste dans le flacon de IC.

- d. Rebouchez le flacon de TCR et faites tourner délicatement la solution pour bien mélanger le contenu. Évitez de faire de la mousse pendant cette étape.
- e. Notez les initiales de l'opérateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.
- f. Jetez le flacon de IC et son bouchon.
- g. Un précipité peut se former dans le wTCR. Il est possible de dissoudre le précipité en chauffant le wTCR entre 42 °C et 60 °C pendant 90 minutes maximum. Laissez le wTCR parvenir à température ambiante avant l'emploi.

3. Préparation du réactif de sélection

Si le réactif de sélection contient un précipité, chauffez-le à 60 °C ± 1 °C pendant 45 minutes maximum pour faciliter la dissolution du précipité. Mélangez délicatement le flacon toutes les 5 à 10 minutes. Laissez le réactif de sélection parvenir à température ambiante avant l'emploi. Ne l'utilisez pas tant que le précipité ou la turbidité n'ont pas disparu.

C. Préparation des réactifs antérieurement reconstitués

1. Les réactifs-sonde, enzymatique et d'amplification précédemment reconstitués doivent parvenir à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) avant le début du test.
2. Si le réactif-sonde reconstitué contient un précipité qui ne se dissout pas à température ambiante, chauffez-le à 60 °C maximum pendant 1 à 2 minutes. Après la remise en suspension, mélangez le flacon délicatement par retournement. Ne l'utilisez pas tant que le précipité ou la turbidité n'ont pas disparu.
3. Si le wTCR contient un précipité, chauffez-le à une température entre 42 °C et 60 °C pendant 90 minutes maximum. Laissez le wTCR parvenir à température ambiante avant l'emploi.
4. Si le réactif de sélection contient un précipité, chauffez-le à 60 °C ± 1 °C pendant 45 minutes maximum pour faciliter la dissolution du précipité. Mélangez délicatement le flacon toutes les 5 à 10 minutes. Laissez le réactif de sélection parvenir à température ambiante avant l'emploi. Ne l'utilisez pas tant que le précipité ou la turbidité n'ont pas disparu.
5. Mélangez bien chaque réactif en retournant doucement le flacon avant de l'utiliser. Évitez la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.

D. Installation des portoirs

1. Laissez les échantillons (calibrateurs, contrôles et prélèvements) parvenir à température ambiante avant de les traiter.
2. Ne mélangez pas les échantillons au vortex.
3. Vérifiez les tubes d'échantillons avant de les perforer. Si un tube d'échantillon contient des bulles ou un volume inférieur à celui généralement observé, centrifugez-le pendant 5 minutes à 420 FCR pour vous assurez qu'il ne reste pas de liquide dans le bouchon.

Remarque : Le non-respect de l'étape 3 peut entraîner un écoulement de liquide par le bouchon du tube d'échantillon.

4. Dans les portoirs pour TTU, placez suffisamment de TTU pour les calibrateurs, contrôles et échantillons.
5. (Facultatif) Créez une liste de travail à l'aide du logiciel Editeur de listes de travail (Worklist Editor Software) Aptima. Consultez le chapitre Editeur de liste de travail (Worklist Editor) du *Aptima Assay Software Operator's Manual* (Manuel de l'opérateur du logiciel de test Aptima) pour de plus amples informations.

Option de pipetage manuel

1. Mélangez soigneusement le wTCR (TCR plus IC). À l'aide du pipeteur à répétition, ajoutez 100 µL de wTCR dans chaque tube réactionnel.
2. À l'aide d'un micro-pipeteur, percez le bouchon du tube d'échantillon en veillant à ne pas enfoncer l'embout au fond du tube.
3. Utilisez un nouvel embout de pipette pour chaque calibrateur, contrôle et échantillon.
4. Ajoutez 400 µL de calibrateur négatif dans les trois premiers tubes de la première unité TTU.
5. Ajoutez 400 µL de calibrateur positif dans les tubes 4 à 6 de la première unité TTU.
6. Ajoutez 400 µL de contrôle négatif dans le tube 7 de la première unité TTU.
7. Ajoutez 400 µL de contrôle positif dans le tube 8 de la première unité TTU.
8. Ajoutez 400 µL de chaque échantillon dans les tubes restants.
9. Une fois tous les échantillons pipetés, couvrez les TTU avec les cartes de protection et passez à la capture de cible.

Option appareil TECAN Freedom EVO

Consultez la *TECAN Freedom EVO 100/4 Application Sheet* (Fiche d'application du TECAN Freedom EVO 100/4) pour le *Aptima HPV Assay* pour des instructions précises concernant l'ajout de wTCR et d'échantillons si vous utilisez cet appareil.

E. Capture de cible

Pour toute information détaillée concernant l'utilisation de l'appareil SB100 avec le *Aptima HPV assay*, consultez la *SB100 Dry Heat Bath/Vortexer Application Sheet* (Fiche d'application du bain à chaleur sèche/vortexeur SB100) pour le *Aptima HPV Assay*.

Pour toute information concernant l'utilisation du système de capture de cible Hologic, consultez le *Target Capture System Operator's Manual* (Manuel de l'opérateur du système de capture de cible).

Remarque : Le pipeteur à répétition utilisé pour la capture de cible et l'amplification doit être réservé à ces étapes uniquement. Consultez *Avertissements et précautions pour de plus amples informations*.

1. Couvrez les cartes de protection avec le cadre du SB100.
2. Une fois que le SB100 est parvenu à 62 °C, tout en maintenant ensemble le cadre et le portoir pour s'assurer que les unités TTU sont solidement en place sur le portoir, glissez doucement le portoir dans le bloc chauffant. Veillez à ne pas projeter le contenu sur les cartes de protection. Tournez les boutons noirs jusqu'à ce que les paliers se bloquent dans les trous du cadre.
3. Appuyez sur la touche appropriée pour démarrer le programme.
4. Sur invite de l'écran du SB100 une fois la dernière incubation terminée, retirez délicatement le portoir du bloc chauffant en veillant à ne pas en projeter le contenu sur les cartes de protection.
5. Placez le portoir sur le socle magnétique du système de capture de cible (Target Capture System, TCS) pendant 5 à 10 minutes. Effectuez les étapes de lavage suivantes :
 - a. Amorcez les conduites de la pompe du poste de distribution en pompant la solution de lavage dans la rampe de distribution. Pompez une quantité suffisante de liquide dans le système afin d'éviter toute formation de bulles d'air dans les tubulures et qu'un flux régulier de liquide soit dispensé par les 10 buses.
 - b. Mettez la pompe à vide en marche et débranchez la rampe d'aspiration du premier connecteur situé entre la rampe et le flacon piège. Assurez-vous que la jauge de vide satisfait les spécifications du test de fuite. Il est possible que 15 secondes soient nécessaires pour obtenir une lecture. Rebranchez la rampe et vérifiez que la jauge de vide est conforme à la spécification du niveau de dépression. Laissez la

pompe à vide en marche jusqu'à ce que toutes les étapes de capture de cible soient terminées et que la rampe d'aspiration soit sèche.

- c. Fixez fermement la rampe d'aspiration au premier jeu d'embouts. Aspirez la totalité du liquide en abaissant les embouts dans la première unité TTU jusqu'à ce qu'ils touchent brièvement le fond des tubes. Ne maintenez pas les embouts en contact avec le fond des tubes.
 - d. Une fois l'aspiration terminée, éjectez les embouts dans leur cassette d'origine. Recommencez les étapes d'aspiration pour les unités TTU restantes en utilisant un embout dédié par échantillon.
 - e. Placez la rampe de distribution sur chaque unité TTU et, à l'aide de la pompe du poste de distribution, versez 1,0 ml de solution de lavage dans chacun des tubes de l'unité TTU.
 - f. Couvrez les tubes avec une carte de protection et retirez le portoir du TCS.
6. Couvrez les cartes de protection avec le cadre du SB100 et glissez le tout portoir dans le bloc chauffant du SB100. Sélectionnez la touche appropriée pour mélanger les tubes au vortex. Une fois l'agitation au vortex terminée, retirez le portoir.
 7. Sur le SB100, appuyez sur la touche appropriée pour continuer avec le préchauffage du bloc.
 8. Remettez le portoir sur le TCS et reprenez les étapes d'aspiration 5c et 5d ci-dessus.
 9. Après l'aspiration finale, retirez le portoir du socle magnétique du TCS et inspectez visuellement les tubes pour vérifier que le liquide a été totalement aspiré et que tous les tubes contiennent des agglomérats de particules magnétiques. S'il reste visiblement du liquide, remettez le portoir sur le socle du TCS pendant 2 minutes et refaites l'aspiration pour cette unité TTU en prenant les mêmes embouts que ceux utilisés précédemment avec chaque échantillon.
 10. Passez à l'étape d'amplification.

F. Amplification

1. Ajoutez le réactif d'amplification et le réactif huileux.

Option de pipetage manuel

- a. À l'aide du pipeteur à répétition, ajoutez 75 µL de réactif d'amplification reconstitué dans chaque tube réactionnel. Tous les mélanges réactionnels du portoir doivent maintenant être rouges.
- b. À l'aide du pipeteur à répétition, ajoutez 200 µL de réactif huileux.
- c. Couvrez les tubes avec des cartes de protection.
- d. Passez à l'étape 2.

Option appareil TECAN Freedom EVO

Consultez la *TECAN Freedom EVO 100/4 Application Sheet* (Fiche d'application du TECAN Freedom EVO 100/4) pour le *Aptima HPV Assay* pour obtenir des instructions précises sur l'ajout des réactifs d'amplification et huileux si vous utilisez cet appareil.

2. Couvrez les cartes de protection avec le cadre du SB100 et glissez le tout dans le bloc chauffant.
3. Appuyez sur la touche appropriée pour démarrer l'incubation.
4. À l'invite, retirez le cadre du SB100. Retirez puis jetez les cartes de protection et ajoutez 25 µL de réactif enzymatique reconstitué à l'aide d'un pipeteur à répétition pendant que le portoir est encore dans le bloc chauffant.

5. Couvrez les tubes avec de nouvelles cartes de protection puis avec le cadre du SB100.
6. Appuyez sur la touche appropriée pour démarrer l'incubation de l'amplification.
7. Une fois l'étape d'incubation terminée, retirez le portoir de l'appareil SB100 et passez à l'étape de post-amplification.

G. Post-amplification

Mettez l'appareil de post-amplification SB100 en marche et démarrez le protocole « APTIMA HPV PSTAMP » (Post-amplification HPV Aptima) pour que l'appareil atteigne 62 °C.

Pour toute information détaillée concernant l'utilisation de l'appareil SB100 avec le Aptima HPV assay, consultez la *SB100 Dry Heat Bath/Vortexer Application Sheet* (Fiche d'application du bain à chaleur sèche/vortexeur SB100) pour le *Aptima HPV Assay*.

Remarque : Le pipeteur à répétition utilisé pour la détection doit être réservé à ces étapes uniquement. Consultez la section *Avertissements et précautions*.

Remarque : Les étapes de post-amplification doivent avoir lieu dans une zone distincte de celle des étapes de préparation des réactifs et de préamplification. Consultez la section *Remarques concernant la procédure*.

1. Retirez les cartes de protection et jetez-les.
2. À l'aide du pipeteur à répétition, ajoutez 100 µL de réactif-sonde reconstitué dans chaque tube réactionnel. Tous les mélanges réactionnels doivent être jaunes.
3. Couvrez les tubes avec des cartes de protection ainsi que le cadre du SB100 et glissez le portoir dans le bloc chauffant.
4. Appuyez sur la touche appropriée pour démarrer les étapes d'agitation au vortex/d'incubation.
5. Une fois l'étape d'incubation terminée, retirez le portoir et laissez incuber à température ambiante pendant 5 minutes. Veillez à sélectionner la touche appropriée sur le clavier du SB100 pour démarrer le temps d'incubation.
6. Une fois les 5 minutes écoulées, comme indiqué sur l'écran du SB100, ajoutez 250 µL de réactif de sélection dans chaque tube réactionnel à l'aide du pipeteur à répétition. Tous les mélanges réactionnels doivent être roses.
7. Couvrez les tubes avec des cartes de protection ainsi que le cadre du SB100 et glissez le portoir dans le bloc chauffant. Appuyez sur la touche appropriée pour démarrer les étapes d'agitation au vortex/d'incubation.
8. Une fois l'incubation terminée, retirez le portoir de l'appareil SB100 et passez à la détection.

H. Détection

1. L'étape de détection doit s'effectuer entre 18 °C et 28 °C.
2. Vérifiez que les volumes d'Auto Detect 1 et d'Auto Detect 2 sont suffisants pour procéder aux tests.
3. Préparez le luminomètre Leader HC+ en plaçant une unité TTU vide dans la position de cassette numéro 1 et en effectuant le protocole WASH (LAVAGE). Consultez le *Leader HC+ Luminometer Operator's Manual* (Manuel de l'opérateur du luminomètre Leader HC+) pour de plus amples informations.
4. Chargez les unités TTU dans le luminomètre.
5. Lancez le logiciel du HPV Aptima assay. Dans le cas où une liste de travail a été créée, vérifiez que son chemin d'accès est actif afin que le logiciel du Aptima HPV assay puisse localiser la liste de travail recherchée.

6. Cliquez sur **NOUVELLE SÉRIE (NEW RUN)**. En l'absence de création d'une liste de travail, saisissez le nombre de tubes (calibrateurs, contrôles et échantillons). Cliquez sur **SUIVANT (NEXT)** pour commencer la série.

Remarque : La série doit être complétée dans les 2 heures qui suivent la fin de l'incubation de l'étape de sélection.

7. Préparez une solution de désactivation en mélangeant un volume identique d'hypochlorite de sodium de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M) et de tampon pour solution de désactivation Aptima dans un récipient en plastique équipé d'un grand couvercle. Mettez une étiquette et inscrivez la date de péremption sur le récipient en plastique. La solution de désactivation est stable 4 semaines à température ambiante.
8. Après avoir retiré les unités TTU utilisées du luminomètre, placez-les dans le récipient avec la solution de désactivation. Laissez les unités TTU dans le récipient pendant 15 minutes avant de les jeter. Le responsable du laboratoire devra avoir établi des méthodes de manipulation et d'élimination des déchets adéquates.

Remarques concernant la procédure

A. Calibrateurs

Chaque série de jusqu'à 100 tests doit contenir trois réplicats du calibrateur négatif et du calibrateur positif. Pour bien travailler avec le logiciel du Aptima HPV assay, les trois réplicats du calibrateur négatif suivis des trois réplicats du calibrateur positif doivent être placés dans les six premières positions de la première unité TTU. S'ils sont placés dans la mauvaise position, la série échouera.

B. Contrôles

Chaque série de jusqu'à 100 tests doit contenir un réplicat du contrôle négatif et du contrôle positif. Le contrôle négatif doit être dans le tube en septième position, suivi du contrôle positif dans le tube en huitième position. S'ils sont placés dans la mauvaise position, la série échouera.

C. Pipetage de l'échantillon

1. Le volume d'échantillon ajouté dans le tube réactionnel doit être de $400 \mu\text{L} \pm 100 \mu\text{L}$. L'inspection visuelle du volume pipeté dans l'unité TTU est recommandée pour vérifier que le transfert de volume est adéquat. Un volume d'échantillon adéquat est nécessaire pour obtenir des résultats précis. Si vous n'avez pas pipeté un volume suffisant, pipetez à nouveau le réactif de capture de cible prêt à l'emploi ainsi que l'échantillon dans un nouveau tube réactionnel.
2. Distribuez soigneusement les échantillons dans chaque tube en évitant tout contact avec le bord pour minimiser les risques de contamination d'un tube à l'autre.

D. Température

1. La température ambiante est définie comme se situant entre 15 °C et 30 °C.
2. La détection est sensible à la température. La température de la zone de détection du laboratoire doit se situer entre 18 °C et 28 °C.

E. Durée

Les réactions de capture de cible, d'amplification, d'hybridation et de sélection sont toutes fonction du temps écoulé. Respectez les durées indiquées dans *Procédure de test avec les DTS Systems*.

F. Poudre de gant

Comme avec tout système de réactif, l'excès de poudre sur certains gants peut entraîner la contamination des tubes ouverts. Il est recommandé d'utiliser des gants sans poudre.

G. Décontamination

1. Les surfaces des paillasses et les pipeteurs du laboratoire doivent être décontaminées régulièrement avec une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laissez la solution au contact avec les surfaces pendant au moins 1 minute, puis rincez à l'eau. Ne laissez pas la solution sécher. Les solutions à base de chlore peuvent piquer le métal et le matériel. Rincez soigneusement le matériel avec de l'eau pour éviter toute piquûre de corrosion.
2. Décontaminez l'appareil TECAN Freedom EVO conformément aux instructions du manuel de l'opérateur.
3. Décontaminez les appareils SB100 conformément aux instructions de la *SB100 Dry Heat Bath/Vortexer Application Sheet* (Fiche d'application du bain à chaleur sèche/vortexeur SB100) pour le *Aptima HPV Assay*.
4. Décontaminez le système de capture de cible conformément aux instructions figurant dans le *Target Capture System Operator's Manual* (Manuel de l'opérateur du système de capture de cible).
5. Essuyez les surfaces de l'unité TCS et les embouts amovibles du tampon de lavage avec des serviettes en papier humidifiées de solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Ensuite, rincez-les avec de l'eau, puis séchez complètement les surfaces avec des serviettes en papier.
6. Plongez les portoirs pour TTU dans une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M) en veillant à ce qu'ils soient recouverts par la solution. Maintenez les portoirs immergés pendant 10 minutes. Toute exposition plus longue endommagerait les portoirs. Rincez soigneusement les portoirs avec de l'eau et placez-les sur un buvard absorbant propre avant de les laisser sécher parfaitement à l'air libre. Pour prolonger la durée de vie utile des portoirs, laissez-les sécher en les orientant vers le haut, et pas vers le bas.
7. Les unités TTU doivent être décontaminées à l'aide de la solution de désactivation comme indiqué dans l'étape concernant la détection. Ne réutilisez pas les unités TTU.

Tigris DTS System

Les réactifs du Aptima HPV assay sont indiqués ci-dessous pour le Tigris DTS System. Les symboles d'identification des réactifs sont également indiqués à côté du nom du réactif.

Réactifs et matériels fournis

Kit de Aptima HPV assay, 250 tests, n° de référence 302611 (4 boîtes)

Les calibrateurs et les contrôles peuvent être achetés séparément. Voir les références individuelles des boîtes ci-dessous.

Boîte réfrigérée HPV Aptima (conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
A	Réactif d'amplification HPV <i>Acides nucléiques non infectieux déshydratés dans une solution tamponnée contenant < 5 % de diluant.</i>	1 flacon
E	Réactif enzymatique HPV <i>Transcriptase inverse et polymérase du RNA (Acide ribonucléique) déshydratées dans une solution tamponnée HEPES contenant < 10 % de réactif diluant.</i>	1 flacon
P	Réactif-sonde HPV <i>Sondes DNA (Acide désoxyribonucléique) chimiluminescentes non infectieuses (< 500 ng/flacon) déshydratées dans une solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.</i>	1 flacon
IC	Réactif de contrôle interne HPV <i>Transcrit de RNA (Acide ribonucléique) non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.</i>	1 flacon

Boîte à température ambiante HPV Aptima (conserver entre 15 °C et 30 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
AR	Solution de reconstitution de réactif d'amplification HPV <i>Solution aqueuse contenant des conservateurs.</i>	1 flacon
ER	Solution de reconstitution de réactif enzymatique HPV <i>Solution tamponnée HEPES contenant un surfactant et du glycérol.</i>	1 flacon
PR	Solution de reconstitution de réactif-sonde HPV <i>Solution tamponnée de succinate contenant < 5% de détergent.</i>	1 flacon
S	Réactif de sélection HPV <i>Solution tamponnée de borate à 600 mM contenant un surfactant.</i>	1 flacon

**Boîte à température ambiante HPV Aptima
(conserver entre 15 °C et 30 °C dès réception)**

Symbole	Composant	Quantité
TCR	Réactif de capture de cible HPV <i>Acide nucléique non infectieux dans une solution tamponnée contenant une phase solide (< 0,5 mg/ml).</i>	1 flacon
	Collets de reconstitution	3
	Fiche des codes à barres de lot de référence	1 fiche

**Boîte de calibrateurs Aptima HPV (N° de réf. 302554)
(conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)**

Symbole	Composant	Quantité
PCAL	Calibrateur HPV positif <i>Transcrit in vitro de HPV 16 non infectieux à la concentration de 1000 copies par ml dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.</i>	5 flacons
NCAL	Calibrateur HPV négatif <i>Solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.</i>	5 flacons

**Boîte de contrôles Aptima HPV (N° de réf. 302556)
(conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)**

Symbole	Composant	Quantité
PC	Contrôle HPV positif <i>Cellules de culture HPV négatives et positives, lysées et inactivées, à 25 cellules par ml, dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.</i>	5 flacons
NC	Contrôle HPV négatif <i>Cellules de culture HPV négatives, lysées et inactivées, dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.</i>	5 flacons

Matériel requis mais disponible séparément

Remarque : Les références du matériel disponible chez Hologic sont indiquées, sauf indication contraire.

	<u>N° de référence</u>
Tigris DTS System	105118
Kit de liquides pour tests Aptima <i>(Solution de lavage Aptima, tampon pour solution de désactivation Aptima et réactif huileux Aptima)</i>	302382
Kit Auto Detect Aptima	301048
Aptima System Fluid Preservative Kit (Kit de conservateur de liquide système Aptima)	302380
Embouts, 1000 µL conductifs, détecteur de liquide	10612513 (Tecan)
Kit pour séries Tigris DTS System	301191
<i>Unités multi-tube (Multi-tube Units, MTU)</i>	<i>104772-02</i>
<i>Sac pour embouts MTU usagés</i>	<i>900907</i>
<i>Défecteur de déchets pour MTU</i>	<i>900931</i>
<i>Couvre-déchets pour MTU</i>	<i>105523</i>

Kit de transfert d'échantillon Aptima	301154C
Kit de collecte et de transport Aptima pour échantillon cervical	302657
Bouchons pénétrables Aptima	105668
Bouchons non pénétrables de remplacement	103036A
Bouchons de rechange pour les solutions de reconstitution du réactif d'amplification et du réactif-sonde	CL0041
Bouchons de rechange pour la solution de reconstitution du réactif enzymatique	501616
Bouchons de rechange pour le TCR et le réactif de sélection	CL0040
Eau de javel (solution d'hypochlorite de sodium à 5 % ou 0,7 M minimum)	—
Eau pour Tigris DTS System	—
<i>Consultez le Tigris DTS System Operator's Manual (Manuel de l'opérateur du Tigris DTS System) pour les spécifications.</i>	
Gants jetables	—
Kit de solution de transfert Aptima (pour échantillons SurePath uniquement)	303658

Matériel optionnel

	<u>N° de référence</u>
Optimiseur d'eau de javel pour nettoyage	302101

Procédure de test pour le Tigris DTS System

Remarque : Consultez le *Tigris DTS System Operator's Manual (Manuel de l'opérateur du Tigris DTS System)* pour de plus amples informations sur la procédure avec ce système.

A. Préparation de la zone de travail

Nettoyez les plans de travail sur lesquels les réactifs et les échantillons seront préparés. Essuyez les plans de travail avec une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laissez la solution d'hypochlorite de sodium au contact des surfaces pendant au moins 1 minute, puis rincez à l'eau. Ne laissez pas sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrez la surface de la pailasse sur laquelle les réactifs et les échantillons seront préparés avec des protections de laboratoire absorbantes propres avec envers plastifié.

B. Préparation des réactifs d'un nouveau kit

Remarque : La reconstitution des réactifs doit être effectuée avant d'entreprendre toute tâche sur le Tigris DTS System.

1. Afin de reconstituer le réactif d'amplification, le réactif enzymatique et le réactif-sonde, combinez les flacons de réactif lyophilisé à la solution de reconstitution. Si les solutions de reconstitution sont réfrigérées, laissez leur température s'équilibrer à température ambiante avant de les utiliser.
 - a. Faites correspondre chaque solution de reconstitution avec son réactif lyophilisé. Vérifiez que la solution de reconstitution et le réactif lyophilisé ont des étiquettes de couleur correspondantes avant de mettre en place le collet de reconstitution.
 - b. Vérifiez les numéros de lot sur la fiche de code à barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs sont associés correctement.
 - c. Ouvrez le flacon de réactif lyophilisé et insérez fermement l'extrémité à encoche du collet de reconstitution dans l'ouverture du flacon (figure 2, étape 1).

- d. Ouvrez la solution de reconstitution correspondante et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
- e. Tout en tenant le flacon de solution sur la paillasse, insérez fermement l'autre extrémité du collet de reconstitution dans l'ouverture du flacon (figure 2, étape 2).
- f. Retournez délicatement l'assemblage de flacons. Laissez la solution s'écouler depuis le flacon dans le flacon en verre (figure 2, étape 3).
- g. Faites tourner en douceur la solution dans le flacon pour bien la mélanger. Évitez de faire de la mousse en faisant tourner le flacon (figure 2, étape 4).
- h. Attendez que le réactif lyophilisé se dissolve, puis retournez à nouveau les flacons assemblés, en les inclinant à un angle de 45° pour minimiser la formation de mousse (figure 2, étape 5). Laissez la totalité du liquide retourner dans le flacon en plastique.
- i. Retirez le collet de reconstitution et le flacon en verre (figure 2, étape 6).
- j. Rebouchez le flacon en plastique. Enregistrez les initiales de l'opérateur ainsi que la date de reconstitution sur tous les flacons de réactif reconstitué (figure 2, étape 7).
- k. Jetez le collet de reconstitution et le flacon en verre (figure 2, étape 8).

Avertissement : Évitez de faire de la mousse en reconstituant les réactifs. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du Tigris DTS System.

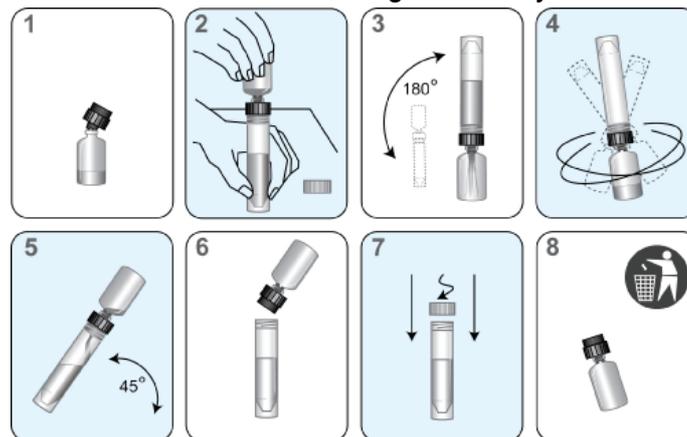


Figure 2. Processus de reconstitution du Tigris DTS System

2. Préparation du réactif de capture de cible (working Target Capture Reagent, wTCR) :
 - a. Faites correspondre les flacons appropriés de TCR et de IC.
 - b. Vérifiez les numéros de lot des réactifs sur la fiche de code à barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs appropriés du kit se correspondent.
 - c. Ouvrez le flacon de TCR et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
 - d. Ouvrez le flacon de IC et versez la totalité du contenu dans le flacon de TCR. Il est normal qu'une petite quantité de liquide reste dans le flacon de IC.
 - e. Rebouchez le flacon de TCR et faites tourner délicatement la solution pour mélanger le contenu. Évitez de faire de la mousse pendant cette étape.
 - f. Notez les initiales de l'opérateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.
 - g. Jetez le flacon de IC et son bouchon.
 - h. Un précipité peut se former dans le wTCR et produire des résultats non valides dus à des erreurs de vérifications du volume. Il est possible de dissoudre le précipité en

chauffant le wTCR entre 42 °C et 60 °C jusqu'à 90 minutes maximum. Laissez le wTCR parvenir à température ambiante avant l'emploi. Ne l'utilisez pas tant que le précipité n'a pas disparu.

3. Préparation du réactif de sélection

- a. Vérifiez le numéro de lot du réactif sur la fiche des codes à barres du lot de référence pour vous assurer qu'il appartient au kit.
- b. Si le réactif de sélection contient un précipité, chauffez-le à 60 °C ± 1 °C pendant 45 minutes maximum pour faciliter la dissolution du précipité. Mélangez délicatement le flacon toutes les 5 à 10 minutes. Laissez le réactif de sélection parvenir à température ambiante avant l'emploi. Ne l'utilisez pas tant que le précipité ou la turbidité n'ont pas disparu.

Remarque : *Mélangez bien les réactifs en les retournant doucement avant de les charger dans le système. Évitez la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.*

C. Préparation des réactifs antérieurement reconstitués

1. Les réactifs-sonde, enzymatique et d'amplification et précédemment reconstitués doivent parvenir à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) avant le début du test.
2. Si le réactif-sonde reconstitué contient un précipité qui ne se dissout pas à température ambiante, chauffez-le à 60 °C maximum pendant 1 à 2 minutes. Ne l'utilisez pas tant que le précipité ou la turbidité n'ont pas disparu.
3. Si le wTCR contient un précipité, chauffez-le à une température entre 42 °C et 60 °C pendant 90 minutes maximum. Laissez le wTCR parvenir à température ambiante avant l'emploi. Ne l'utilisez pas tant que le précipité n'a pas disparu.
4. Si le réactif de sélection contient un précipité, chauffez-le à 60 °C ± 1 °C pendant 45 minutes maximum pour faciliter la dissolution du précipité. Mélangez délicatement le flacon toutes les 5 à 10 minutes. Laissez le réactif de sélection parvenir à température ambiante avant l'emploi. Ne l'utilisez pas tant que le précipité ou la turbidité n'ont pas disparu.
5. Mélangez bien chaque réactif en le retournant doucement avant de le charger dans le système. Évitez la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.
6. N'ajoutez pas davantage de réactif les aux flacons de réactif. Le Tigris DTS System détecte et rejette les flacons dans lesquels plus de réactif a été ajouté.

D. Manipulation des échantillons

1. Laissez les échantillons (calibrateurs, contrôles et prélèvements) parvenir à température ambiante avant de les traiter.
2. **Ne mélangez pas les échantillons au vortex.**
3. Les échantillons cytologiques en milieu liquide SurePath doivent être traités avec de la protéinase K avant d'être testés avec le Aptima HPV assay, conformément aux instructions figurant dans *Collecte et conservation des échantillons*, section C.
4. Vérifiez les tubes d'échantillons avant de les charger dans le portoir. Si un tube d'échantillon contient des bulles ou un volume inférieur à celui généralement observé, centrifugez-le pendant 5 minutes à 420 FCR pour vous assurez qu'il ne reste pas de liquide dans le bouchon.

Remarque : *Le non-respect de l'étape 4 peut entraîner un écoulement de liquide par le bouchon du tube d'échantillon.*

E. Préparation du système

Configurez l'appareil et la liste de travail conformément aux instructions du *Tigris DTS System Operator's Manual* (Manuel de l'opérateur du Tigris DTS System) et à la section *Remarques concernant la procédure* ci-dessous.

Remarques concernant la procédure

A. Calibrateurs

1. Chaque liste de travail doit contenir 3 réplicats du calibrateur négatif et du calibrateur positif. Pour bien travailler avec le logiciel du Aptima HPV assay, le calibrateur négatif doit se trouver dans le tube de la première position du premier portoir de la liste de travail et le calibrateur positif dans le tube de la seconde position du premier portoir de la liste de travail.
2. Toute tentative de pipeter plus de trois réplicats d'un tube de calibrateur peut entraîner des erreurs de volume insuffisant.

B. Contrôles

1. Le logiciel du Aptima HPV assay exige de commencer et de terminer les séries avec des contrôles. Le contrôle négatif doit se trouver dans le tube de la troisième position du premier portoir et dans le tube de l'avant-dernière position du dernier portoir de la liste de travail. Le contrôle positif doit se trouver dans le tube de la quatrième position du premier portoir et dans le tube de la dernière position du dernier portoir de la liste de travail.
2. Toute tentative de pipeter plusieurs fois depuis un tube de contrôle peut entraîner des erreurs de volume insuffisant.

C. Température

La température ambiante est définie comme se situant entre 15 °C et 30 °C.

D. Poudre de gant

Comme avec tout système de réactif, l'excès de poudre sur certains gants peut entraîner la contamination des tubes ouverts. Il est recommandé d'utiliser des gants sans poudre.

Panther Système

Les réactifs du kit Aptima HPV assay sont indiqués ci-dessous pour le système Panther. Les symboles d'identification des réactifs sont également indiqués à côté du nom du réactif.

Réactifs et matériels fournis

Aptima HPV assay, 250 tests, n° de référence 303093 (3 boîtes)

Aptima HPV assay, 100 tests, n° réf. 302929 (3 boîtes)

Les calibrateurs sont vendus séparément. Consultez les numéros de référence spécifiques ci-dessous.

Boîte réfrigérée HPV Aptima (conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
A	Réactif d'amplification HPV <i>Acides nucléiques non infectieux déshydratés dans une solution tamponnée contenant < 5 % de diluant.</i>	1 flacon
E	Réactif enzymatique HPV <i>Transcriptase inverse et polymérase du RNA (Acide ribonucléique) déshydratées dans une solution tamponnée HEPES contenant < 10 % de réactif diluant.</i>	1 flacon
P	Réactif-sonde HPV <i>Sondes DNA (Acide désoxyribonucléique) chimiluminescentes non infectieuses (< 500 ng/flacon) déshydratées dans une solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.</i>	1 flacon
IC	Réactif de contrôle interne HPV <i>Transcrit de RNA (Acide ribonucléique) non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.</i>	1 flacon

Boîte à température ambiante HPV Aptima (Conserver à température ambiante, entre 15 °C et 30 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
AR	Solution de reconstitution de réactif d'amplification HPV <i>Solution aqueuse contenant des conservateurs.</i>	1
ER	Solution de reconstitution de réactif enzymatique HPV <i>Solution tamponnée HEPES contenant un surfactant et du glycérol.</i>	1
PR	Solution de reconstitution de réactif-sonde HPV <i>Solution tamponnée de succinate contenant < 5% de détergent.</i>	1
S	Réactif de sélection HPV <i>Solution tamponnée de borate à 600 mM contenant un surfactant.</i>	1

**Boîte à température ambiante HPV Aptima
(Conserver à température ambiante, entre 15 °C et 30 °C dès réception)**

Symbole	Composant	Quantité
TCR	Réactif de capture de cible HPV <i>Acide nucléique non infectieux dans une solution tamponnée contenant une phase solide (< 0,5 mg/ml).</i>	1
	Collets de reconstitution	3
	Fiche des codes à barres de lot de référence	1 fiche

**Boîte de calibrateurs Aptima HPV (N° de réf. 302554)
(conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)**

Symbole	Composant	Quantité
PCAL	Calibrateur HPV positif <i>Transcrit in vitro de HPV 16 non infectieux à la concentration de 1000 copies par ml dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.</i>	5 flacons
NCAL	Calibrateur HPV négatif <i>Solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.</i>	5 flacons

Matériel requis mais disponible séparément

Remarque : Les références du matériel disponible chez Hologic sont indiquées, sauf indication contraire.

	<u>N° de référence</u>
Panther Système	303095
Kit pour série Panther	303096
<i>Kit de liquides pour tests Aptima</i>	303014
<i>(Solution de lavage Aptima, tampon pour solution de désactivation Aptima et réactif huileux Aptima)</i>	
<i>Kit Auto Detect Aptima</i>	303013
<i>Unités multi-tube (MTU)</i>	104772-02
<i>Kit de sacs pour déchets Panther</i>	902731
<i>Couvre-déchets Panther</i>	504405
Embouts, 1000 µL conductifs, détecteur de liquide	10612513 (Tecan)
Kit de transfert d'échantillon Aptima	301154C
Kit de collecte et de transport Aptima pour échantillon cervical	302657
Bouchons pénétrables Aptima	105668
Bouchons non pénétrables de remplacement	103036A
Bouchons de rechange pour kits de 250 tests :	
<i>Solutions de reconstitution pour réactif d'amplification et réactif-sonde</i>	CL0041
<i>Solution de reconstitution pour réactif enzymatique</i>	501616
<i>TCR et réactif de sélection</i>	CL0040
Bouchons de rechange pour kits de 100 tests :	
<i>Solutions de reconstitution pour réactif d'amplification et réactif-sonde</i>	CL0041
<i>Solution de reconstitution pour réactif enzymatique</i>	CL0041
<i>TCR et réactif de sélection</i>	501604

Eau de javel (solution d'hypochlorite de sodium à 5 % ou 0,7 M minimum)	—
Gants jetables	—
Kit de solution de transfert Aptima (pour échantillons SurePath uniquement)	303658

Matériel optionnel

	<u>N° de référence</u>
Optimiseur d'eau de javel pour nettoyage	302101

Procédure de test pour le Panther Système

Remarque : Consultez le *Panther System Operator's Manual (Manuel de l'opérateur du Panther Système)* pour de plus amples informations sur la procédure du Panther Système.

A. Préparation de la zone de travail

Nettoyez les plans de travail sur lesquels les réactifs et les échantillons seront préparés. Essuyez les plans de travail avec une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laissez la solution d'hypochlorite de sodium au contact des surfaces pendant au moins 1 minute, puis rincez à l'eau. Ne laissez pas sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrez la surface de la paillasse sur laquelle les réactifs et les échantillons seront préparés avec des protections de laboratoire absorbantes propres avec envers plastifié.

B. Préparation des réactifs d'un nouveau kit

Remarque : La reconstitution des réactifs doit être effectuée avant d'entreprendre toute tâche sur le Panther Système.

1. Afin de reconstituer le réactif d'amplification, le réactif enzymatique et le réactif-sonde, combinez les flacons de réactif lyophilisé à la solution de reconstitution. Si les solutions de reconstitution sont réfrigérées, laissez leur température s'équilibrer à température ambiante avant de les utiliser.
 - a. Faites correspondre chaque solution de reconstitution avec son réactif lyophilisé. Vérifiez que la solution de reconstitution et le réactif ont des étiquettes de couleur correspondantes avant de mettre en place le collet de reconstitution.
 - b. Vérifiez les numéros de lot sur la fiche de code à barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs sont associés correctement.
 - c. Ouvrez le flacon de réactif lyophilisé et insérez fermement l'extrémité à encoche du collet de reconstitution dans l'ouverture du flacon (figure 3, étape 1).
 - d. Ouvrez la solution de reconstitution correspondante et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
 - e. Tout en tenant le flacon de solution de sur la paillasse, insérez fermement l'autre extrémité du collet de reconstitution dans le flacon (figure 3, étape 2).
 - f. Retournez délicatement l'assemblage de flacons. Laissez la solution s'écouler depuis le flacon dans le flacon en verre (figure 3, étape 3).
 - g. Faites tourner en douceur la solution dans le flacon pour bien la mélanger. Évitez de faire de la mousse en faisant tourner le flacon (figure 3, étape 4).
 - h. Attendez que le réactif lyophilisé se dissolve, puis retournez à nouveau les flacons assemblés, en les inclinant à un angle de 45° pour minimiser la formation de mousse (figure 3, étape 5). Laissez la totalité du liquide retourner dans le flacon en plastique.

- i. Retirez le collet de reconstitution et le flacon en verre (figure 3, étape 6).
- j. Rebouchez le flacon en plastique. Enregistrez les initiales de l'opérateur ainsi que la date de reconstitution sur tous les flacons de réactif reconstitué (figure 3, étape 7).
- k. Jetez le collet de reconstitution et le flacon (figure 3, étape 8).

Avertissement : Évitez de faire de la mousse en reconstituant les réactifs. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du Panther Système.

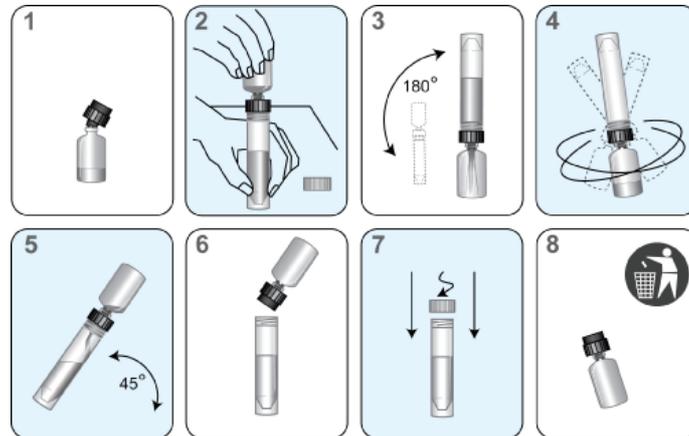


Figure 3. Procédure de reconstitution du Panther Système

2. Préparation du réactif de capture de cible (working Target Capture Reagent, wTCR) :
 - a. Faites correspondre les flacons appropriés de TCR et de IC.
 - b. Vérifiez les numéros de lot des réactifs sur la fiche de code à barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs appropriés du kit se correspondent.
 - c. Ouvrez le flacon de TCR et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
 - d. Ouvrez le flacon de IC et versez la totalité du contenu dans le flacon de TCR. Il est normal qu'une petite quantité de liquide reste dans le flacon de IC.
 - e. Rebouchez le flacon de TCR et faites tourner délicatement la solution pour mélanger le contenu. Évitez de faire de la mousse pendant cette étape.
 - f. Notez les initiales de l'opérateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.
 - g. Jetez le flacon de IC et son bouchon.
 - h. Un précipité peut se former dans le wTCR et produire des résultats non valides dus à des erreurs de vérifications du volume. Il est possible de dissoudre le précipité en chauffant le wTCR entre 42 °C et 60 °C jusqu'à 90 minutes maximum. Laissez le wTCR parvenir à température ambiante avant l'emploi. Ne l'utilisez pas tant que le précipité n'a pas disparu.
3. Préparation du réactif de sélection
 - a. Vérifiez le numéro de lot du réactif sur la fiche des codes à barres du lot de référence pour vous assurer qu'il appartient au kit.
 - b. Si le réactif de sélection contient un précipité, chauffez-le à 60 °C ± 1 °C pendant 45 minutes maximum pour faciliter la dissolution du précipité. Mélangez délicatement le flacon toutes les 5 à 10 minutes. Laissez le réactif de sélection parvenir à température ambiante avant l'emploi. Ne l'utilisez pas tant que le précipité ou la turbidité n'ont pas disparu.

Remarque : Mélangez bien les réactifs en les retournant doucement avant de les charger dans le système. Évitez la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.

C. Préparation des réactifs antérieurement reconstitués

1. Les réactifs-sonde, enzymatique et d'amplification et précédemment reconstitués doivent parvenir à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) avant le début du test.
2. Si le réactif-sonde reconstitué contient un précipité qui ne se dissout pas à température ambiante, chauffez-le à 60 °C maximum pendant 1 à 2 minutes. Ne l'utilisez pas tant que le précipité ou la turbidité n'ont pas disparu.
3. Si le wTCR contient un précipité, chauffez-le à une température entre 42 °C et 60 °C pendant 90 minutes maximum. Laissez le wTCR parvenir à température ambiante avant l'emploi. Ne l'utilisez pas tant que le précipité n'a pas disparu.
4. Si le réactif de sélection contient un précipité, chauffez-le à 60 °C ± 1 °C pendant 45 minutes maximum pour faciliter la dissolution du précipité. Mélangez délicatement le flacon toutes les 5 à 10 minutes. Laissez le réactif de sélection parvenir à température ambiante avant l'emploi. Ne l'utilisez pas tant que le précipité ou la turbidité n'ont pas disparu.
5. Mélangez bien chaque réactif en le retournant doucement avant de le charger dans le système. Évitez la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.
6. N'ajoutez pas davantage de réactif les aux flacons de réactif. Le Panther Système détecte et rejette les flacons dans lesquels plus de réactif a été ajouté.

D. Manipulation des échantillons

1. Laissez les échantillons (calibrateurs et prélèvements) parvenir à température ambiante avant de les traiter.
2. **Ne mélangez pas les échantillons au vortex.**
3. Vérifiez les tubes d'échantillons avant de les charger dans le portoir. Si un tube d'échantillon contient des bulles ou un volume inférieur à celui généralement observé, centrifugez-le pendant 5 minutes à 420 FCR pour vous assurez qu'il ne reste pas de liquide dans le bouchon.

Remarque : Le non-respect de l'étape 3 peut entraîner un écoulement de liquide par le bouchon du tube d'échantillon.

E. Préparation du système

1. Configurez le système conformément aux instructions du *Panther System Operator's Manual* (Manuel de l'opérateur du Panther Système) et à la section *Remarques concernant la procédure* ci-dessous. Vérifiez que des portoirs de réactifs et des adaptateurs TCR de taille appropriée sont utilisés.
2. Chargez les échantillons.

Remarques concernant la procédure

A. Calibrateurs

1. Pour bien travailler avec le logiciel du Aptima HPV assay sur le Panther Système, trois réplicats du calibrateur négatif et trois réplicats du calibrateur positif sont nécessaires. Un flacon de chaque calibrateur peut être chargé dans une quelconque position de portoir d'une quelconque rangée du compartiment des échantillons du Panther Système. Le pipetage des échantillons commence quand l'une des deux conditions suivantes est satisfaite :

- a. Un calibrateur positif et un calibrateur négatif sont en cours de traitement par le système.
 - b. Des résultats valides pour les calibrateurs sont enregistrés dans le système.
2. Une fois que les tubes de calibrateur ont été pipetés et qu'ils sont en cours de traitement pour un kit de réactifs spécifique, il est possible de traiter les échantillons avec le kit de réactifs du test associé pendant 24 heures maximum, sauf si :
- a. Les calibrateurs sont non valides.
 - b. Le kit de réactifs du test associé est retiré du système.
 - c. Le kit de réactifs du test associé a dépassé ses limites de stabilité.
3. Toute tentative de pipeter plus de trois réplicats d'un tube de calibrateur peut entraîner des erreurs de traitement.
- B. Température
La température ambiante est définie comme se situant entre 15 °C et 30 °C.
- C. Poudre de gant
Comme avec tout système de réactif, l'excès de poudre sur certains gants peut entraîner la contamination des tubes ouverts. Il est recommandé d'utiliser des gants sans poudre.

Procédures de contrôle de qualité

A. Critères de validité de la série

Le logiciel détermine automatiquement la validité de la série. Le logiciel invalidera une série si l'une des conditions suivantes se produit :

- Plus d'un réplicat non valide du calibrateur négatif.
- Plus d'un réplicat non valide du calibrateur positif.
- Un contrôle négatif non valide (DTS Systems et Tigris DTS System uniquement).
- Un contrôle positif non valide (DTS Systems et Tigris DTS System uniquement).

Une série peut être invalidée par un opérateur si des difficultés techniques, de l'opérateur ou de l'appareil sont observées et documentées pendant la réalisation du test.

Une série non valide doit être répétée. Les séries avortées doivent être répétées.

B. Critères d'acceptation des calibrateurs

Le tableau ci-dessous définit les critères RLU des réplicats des calibrateurs négatif et positif.

Calibrateur négatif	
Analyte	≥ 0 et $\leq 45\ 000$ RLU
IC	$\geq 75\ 000$ et $\leq 400\ 000$ RLU
Calibrateur positif	
Analyte	$\geq 480\ 000$ et $\leq 1\ 850\ 000$ RLU
IC	$\leq 450\ 000$ RLU

C. Calcul du seuil IC

Le seuil IC est déterminé par le signal (éclair) du IC produit par les réplicats valides du calibrateur négatif.

$$\text{Seuil IC} = 0,5 \times [\text{moyenne RLU du IC des réplicats valides du calibrateur négatif}]$$

D. Calcul du seuil d'analyte

Le seuil d'analyte est déterminé par le signal d'analyte (signal brillant) produit par les réplicats valides du calibrateur négatif ainsi que le signal d'analyte produit par les réplicats valides du calibrateur positif

$$\text{Seuil d'analyte} = [0,09 \times \text{moyenne RLU de l'analyte des réplicats valides du calibrateur positif}] + [\text{moyenne RLU de l'analyte des réplicats valides du calibrateur négatif}]$$

E. Calcul du signal d'analyte/seuil (Analyte Signal to Cutoff, S/CO)

Le S/CO d'analyte est déterminé par les valeurs RLU de l'analyte de l'échantillon de test et le seuil d'analyte pour la série.

$$\text{S/CO d'analyte} = \frac{\text{Valeurs RLU de l'analyte de l'échantillon de test}}{\text{Seuil d'analyte}}$$

F. Critères d'acceptation des contrôles (DTS Systems et Tigris DTS System uniquement)

Le contrôle négatif doit avoir un résultat négatif valide (RLU de IC \geq seuil IC et S/CO d'analyte $< 0,50$). Le contrôle positif doit avoir un résultat positif valide (S/CO d'analyte $\geq 0,50$).

Interprétation des tests

Les résultats des tests sont automatiquement déterminés par le logiciel de test. Un résultat de test peut être négatif, positif ou non valide, selon les valeurs RLU du IC et le S/CO d'analyte. Un résultat de test peut aussi ne pas être valide pour d'autres paramètres (forme anormale de la courbe cinétique) qui se situent en dehors des seuils normalement prévus. Si les résultats initiaux d'un test ne sont pas valides, le test doit être refait.

Les échantillons du kit CSCT Aptima peuvent être dilués afin de maîtriser les substances inhibitrices susceptibles d'être présentes. Diluer 1 volume de l'échantillon non valide dans 8 volumes de milieu pour transport d'échantillon (il s'agit de la solution dans les tubes du kit CSCT) ; c'est-à-dire 560 µL d'échantillon dans un nouveau tube du kit CSCT, ce tube contenant 4,5 ml du milieu pour transport d'échantillon. Retournez doucement l'échantillon dilué pour le mélanger ; évitez de former de la mousse. Testez l'échantillon dilué selon la procédure de test standard.

Remarque : *Un volume minimum de 1,7 ml est nécessaire pour tester 1 aliquot de l'échantillon. Ne diluez pas un échantillon dilué non valide. Si un échantillon dilué donne un résultat non valide, il convient alors d'obtenir un nouvel échantillon auprès de la patiente.*

Résultat du Aptima HPV Assay	Critères
Négatif	<i>S/CO analyte < 0,50 IC ≥ seuil IC IC ≤ 2 000 000 RLU</i>
Positif	<i>S/CO analyte ≥ 0,50 IC ≤ 2 000 000 RLU Analyte ≤ 13 000 000 RLU</i>
Non valide	<i>IC > 2 000 000 RLU ou S/CO d'analyte < 0,50 et IC < seuil IC ou Analyte > 13 000 000 RLU</i>

Limites

- A. Les types d'échantillons autres que ceux identifiés dans l'usage prévu n'ont pas été évalués.
- B. La performance du Aptima HPV assay n'a pas été évaluée chez les personnes vaccinées contre le HPV.
- C. Le Aptima HPV assay n'a pas été évalué dans les cas d'abus sexuel soupçonné.
- D. La prévalence de l'infection au HPV dans une population donnée peut affecter la performance. Les valeurs prédictives positives diminuent quand la population testée a un taux de prévalence bas ou que les individus n'ont pas de risque d'infection.
- E. Les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep contenant moins de 1 ml après la préparation de la lame du test ThinPrep Pap sont considérés comme inadéquats pour le Aptima HPV assay.
- F. Les conséquences sur les résultats cytologiques d'un retrait de 1 ml d'échantillon cytologique en milieu liquide SurePath avant le traitement cytologique n'ont pas été évaluées.
- G. Les résultats de test peuvent être affectés par un recueil, une conservation ou un traitement incorrects des échantillons.
- H. Le contrôle interne vérifie les étapes de capture de cible, d'amplification et de détection du test. Il n'est pas destiné à contrôler l'adéquation des échantillons cervicaux.
- I. Un résultat négatif du Aptima HPV assay n'exclut pas la possibilité d'anomalies cytologiques ou la présence, sous-jacente ou future, de CIN2, CIN3 ou d'un cancer.
- J. Les lubrifiants personnels contenant du Polyquaternium 15 peuvent interférer avec la performance du test s'ils sont présents à des concentrations supérieures à 0,025 % (v/v ou p/v) dans l'échantillon à tester.
- K. Les médicaments antifongiques contenant du tioconazole peuvent interférer avec la performance du test s'ils sont présents à des concentrations supérieures à 0,075 % (p/v) dans l'échantillon à tester.
- L. Le Aptima HPV Assay fournit des résultats qualitatifs. Il n'est donc pas possible d'établir une corrélation entre la magnitude d'un signal de test positif et l'expression du taux de mRNA (Messenger RNA) dans un échantillon.
- M. La détection du mRNA (Messenger RNA) du HPV à haut risque dépend du nombre de copies présentes dans l'échantillon et peut être affectée par les méthodes de recueil de l'échantillon, les facteurs liés au patient, le stade de l'infection et la présence de substances interférentes.
- N. Une infection au HPV ne constitue pas un indicateur de lésions cytologiques HSIL ou de lésions CIN de haut grade sous-jacentes, pas plus qu'elle ne suppose le développement de lésions CIN2, CIN3 ou d'un cancer. La plupart des femmes infectées par un ou plusieurs types de HPV à haut risque ne développent pas de lésions CIN2, CIN3 ou un cancer.

- O. Les effets d'autres variables potentielles, telles que les décharges vaginales, l'utilisation de tampons, le douchage, etc., et les variables de recueil d'échantillons n'ont pas été évalués.
- P. L'emploi de ce produit doit être limité au personnel formé à l'utilisation du Aptima HPV assay.
- Q. La contamination croisée des échantillons peut entraîner des faux positifs. Le taux de contamination de transfert du Aptima HPV assay sur le Tigris DTS System a été estimé dans une étude non clinique à 0,3 %.
- R. L'interprétation des résultats du Aptima HPV assay doit être effectuée en relation avec les autres données cliniques et de laboratoire dont dispose le clinicien.
- S. Des faux positifs peuvent survenir lors de ce test. Les transcrits *in vitro* des génotypes du HPV à faible risque 26, 67, 70 et 82 ont présenté une réactivité croisée avec le Aptima HPV assay.
- T. Le matériel de contrôle positif n'est pas destiné à contrôler la performance au seuil du test.

Performance du test avec les DTS Systems

Performance clinique du Aptima HPV Assay avec les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep

Plus de 700 échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep Pap ont été prélevés sur des femmes européennes lors d'une consultation de suivi en raison de : un ou plusieurs tests de Pap anormaux, une infection au HPV ou d'autres raisons. Un millilitre (1,0 ml) de chaque échantillon a été dilué dans 2,9 ml de milieu pour transport d'échantillon Aptima et un seul réplicat testé avec le Aptima HPV assay. Les données cytologiques, histologiques, ainsi que les résultats d'un test de détection du DNA (Acide désoxyribonucléique) du HPV (DNA-HPV) du commerce étaient disponibles pour la plupart des échantillons. Le statut de HPV à haut risque de chaque échantillon a été déterminé par la concordance entre le test Aptima et le test DNA HPV disponible dans le commerce ainsi que par l'analyse supplémentaire des échantillons présentant des résultats discordants, au moyen d'un test de génotypage de DNA (Acide désoxyribonucléique) amplifié. La sensibilité et la spécificité de la détection de l'acide nucléique HPV a été déterminée. La sensibilité et la spécificité cliniques de la détection de la maladie, définie comme une néoplasie intra-épithéliale cervicale (Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN) 2 ou un résultat histologique plus important, ont été également calculées pour la totalité de la population d'échantillons de même que pour des sous-ensembles précis en se basant sur les résultats cytologiques.

La sensibilité et la spécificité du Aptima HPV assay pour la détection du HPV à haut risque sont illustrées dans le tableau 1 pour les 781 échantillons testés sur les DTS Systems. La sensibilité du test était de 92,6 %, la spécificité de 98,5 %, et les valeurs prédictives positives et négatives pour la détection du HPV à haut risque ont été respectivement de 98,8 % et 90,9 %.

Tableau 1 : Sensibilité et spécificité du Aptima HPV assay sur les DTS Systems pour la détection du HPV à haut risque

		HPV à haut risque		Total
		+	-	
HPV Aptima	+	412	5	417
	-	33	331	364
Total		445	336	781

Sensibilité (IC à 95 %) = 92,6 % (89,8-94,7)

Spécificité (IC à 95 %) = 98,5 % (96,6-99,4)

Coefficient de prévision positif = 98,8 %

Valeur prédictive négative = 90,9 %

La sensibilité et la spécificité cliniques du Aptima HPV assay pour la détection de \geq CIN2 sont indiquées dans le tableau 2a pour les 753 échantillons avec résultats histologiques testés sur les DTS Systems. La sensibilité clinique du test était de 90,8 %, la spécificité de 55,7 %, et les coefficients de prévision positifs et négatifs pour la détection de \geq CIN2 étaient respectivement de 32,1 % et 96,3 %. La sensibilité du Aptima HPV assay était similaire à celle du DNA-HPV, qui s'élevait à 95,0 % (tableau 2b) ; la spécificité du Aptima HPV assay était cependant significativement supérieure à celle du test DNA-HPV, située à 47,4 % dans cette population pour la détection des lésions \geq CIN2. Des 753 échantillons avec résultats histologiques, 159 présentaient un résultat cytologique indéterminé (ASC-US). La sensibilité et la spécificité du Aptima HPV assay dans cette population étaient respectivement de 92,3 % et 41,4 % pour la détection de \geq CIN2.

Des analyses similaires ont été également effectuées en utilisant un critère d'évaluation clinique de \geq CIN3. La sensibilité et la spécificité cliniques du Aptima HPV assay pour la détection de \geq CIN3 sont indiquées dans le tableau 3a pour les 753 échantillons avec résultats histologiques testés sur les DTS Systems. La sensibilité clinique du test était de 97,7 %, la spécificité de 52,9 % et les coefficients de prévision positifs et négatifs pour la détection de \geq CIN3 étaient respectivement de 21,3 % et 99,4 %. Cette fois encore, la sensibilité du Aptima HPV assay était similaire à celle du test DNA-HPV, dont la sensibilité de détection de \geq CIN3 était de 98,9 % (tableau 3b) et la spécificité du Aptima HPV assay était significativement supérieure à celle du test DNA-HPV, située à 44,4 % dans cette population pour la détection des lésions \geq CIN3. Des 753 échantillons avec résultats histologiques, 159 présentaient un résultat cytologique indéterminé (ASCUS). La sensibilité et la spécificité du Aptima HPV assay dans cette population étaient respectivement de 100 % et 40,1 % pour la détection de \geq CIN3.

Ces résultats, qui ont démontré une sensibilité similaire et une spécificité significativement plus importante du Aptima HPV assay comparé à la détection de DNA (Acide désoxyribonucléique) à haut risque, sont similaires à ceux obtenus dans d'autres études.^{27,28,29,30,31}

Tableau 2a : Sensibilité et spécificité du Aptima HPV assay sur les DTS Systems pour la détection de maladies (\geq CIN2)

		\geq CIN2	< CIN2	Total
HPV Aptima	+	128	271	399
	-	13	341	354
	Total	141	612	753

Sensibilité (IC à 95 %) = 90,8 % (84,9-94,5)
 Spécificité (IC à 95 %) = 55,7 % (51,8-59,6)
 Coefficient de prévision positif = 32,1 %
 Coefficient de prévision négatif = 96,3 %

Tableau 2b : Sensibilité et spécificité du test DNA-HPV pour la détection de maladies (\geq CIN2)

		\geq CIN2	< CIN2	Total
DNA-HPV	+	134	322	456
	-	7	290	297
	Total	141	612	753

Sensibilité (IC à 95 %) = 95,0 % (90,1-97,6)
 Spécificité (IC à 95 %) = 47,4 % (43,5-51,4)
 Coefficient de prévision positif = 29,4 %
 Coefficient de prévision négatif = 97,6 %

Tableau 3a : Sensibilité et spécificité du Aptima HPV assay sur les DTS Systems pour la détection de maladies (\geq CIN3)

		\geq CIN3	< CIN3	Total
HPV Aptima	+	85	314	399
	-	2	352	354
	Total	87	666	753

Sensibilité (IC à 95 %) = 97,7 % (92,0-99,4)
 Spécificité (IC à 95 %) = 52,9 % (49,1-56,6)
 Coefficient de prévision positif = 21,3 %
 Coefficient de prévision négatif = 99,4 %

Tableau 3b : Sensibilité et spécificité du test DNA-HPV pour la détection de maladies (\geq CIN3)

		\geq CIN3	< CIN3	Total
DNA-HPV	+	86	370	456
	-	1	296	297
Total		87	666	753

Sensibilité (IC à 95 %) = 98,9 % (93,8-99,8)

Spécificité (IC à 95 %) = 44,4 % (40,7-48,2)

Coefficient de prévision positif = 18,9 %

Coefficient de prévision négatif = 99,7 %

Performance clinique du Aptima HPV Assay avec les échantillons recueillis dans des kits de prélèvements et de transports des échantillons cervicaux

Des échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep et des échantillons recueillis dans des CSCT ont été appariés et recueillis sur 728 sujets. Un millilitre (1,0 ml) de chaque échantillon cytologique en milieu liquide ThinPrep a été dilué dans 2,9 ml de milieu pour transport d'échantillon Aptima et un seul réplicat a été testé avec le Aptima HPV assay sur les DTS Systems. Un seul réplicat de chaque échantillon CSCT a été également testé avec le Aptima HPV assay. Le pourcentage de concordance du Aptima HPV assay entre les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep et les échantillons CSCT a été déterminé et est indiqué dans le tableau 4.

Le pourcentage de concordance positive était de 95,1 % (IC à 95 % : 91,6-97,2) ; le pourcentage de concordance négative était de 95,9 % (IC à 95 % : 93,7-97,3) ; et le pourcentage de concordance globale était de 95,6 % (IC à 95 % : 93,9-96,9). On a pu observer une corrélation étroite entre les échantillons Pap liquides et ceux du kit de transport (κ = 0,90).

Tableau 4 : Concordance globale des résultats du Aptima HPV assay obtenus à partir des échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep et des échantillons CSCT Aptima testés sur les DTS Systems

		Échantillon cytologique en milieu liquide ThinPrep		Total
		+	-	
Échantillon du kit CSCT Aptima	+	233	20	253
	-	12	463	475
	Total	245	483	728

Concordance positive = 95,1% (91,6-97,2)

Concordance négative = 95,9% (93,7-97,3)

Concordance globale = 95,6% (93,9-96,9)

Coefficient Kappa = 0,90

Sensibilité analytique

La sensibilité analytique du Aptima HPV assay pour la détection du HPV à haut risque a été déterminée en testant des échantillons cytologiques individuels négatifs en milieu liquide ThinPrep, auxquels ont été ajoutés des transcrits de HPV *in vitro* ou des cellules infectées à des concentrations diverses. Trente réplicats de chaque taux de copie ont été testés avec chacun des deux lots de réactifs pour un total de 60 réplicats. Une analyse de régression Probit a été effectuée et le seuil de détection de 95 % prévue a été déterminée pour chaque type de HPV (tableau 5).

Une analyse de régression Probit a montré que HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 56, 58, 59, 66 et 68 avaient des limites de détection de 95 % prévues inférieures à 100 copies/réaction et que les types 51 et 52 avaient une limite de détection de 95 % prévue entre 100 et 300 copies/réaction.

Tableau 5 : Limite de détection de 95 % prévue pour le Aptima HPV assay et déterminée par l'analyse Probit des données des DTS Systems

Cible	Seuil de détection de 95 %* (limites fiducielles de 95 %)
HPV 16	74 (54 - 113)
HPV 18	52 (39 - 76)
HPV 31	19 (14 - 27)
HPV 33	24 (18 - 37)
HPV 35	27 (22 - 38)
HPV 39	32 (23 - 49)
HPV 45	28 (17 - 90)
HPV 51	198 (147 - 289)
HPV 52	239 (187 - 324)
HPV 56	48 (36 - 71)
HPV 58	99 (74 - 146)
HPV 59	89 (68 - 127)
HPV 68	27 (20 - 40)
HPV 66	68 (50 - 105)

*Copies par réaction pour les transcrits *in vitro* et cellules par réaction pour les lignées cellulaires.

Reproductibilité du test

La reproductibilité du Aptima HPV assay a été déterminée en testant 16 membres de panel en triple dans 2 séries avec 2 lots de réactif, sur 3 appareils et avec 3 opérateurs. Les tests ont été effectués sur 20 jours sur un même site. Les échantillons du panel sont décrits dans le tableau 6. Six échantillons du panel étaient négatifs au HPV (3 d'entre eux étaient des milieux pour transport d'échantillon Aptima et les 3 autres étaient des échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep groupés), quatre étaient faiblement positifs au HPV (seuil de détection ~95 %) et six modérément positifs au HPV ($\geq \sim 3 \times$ le seuil de détection de 95 %). Les échantillons faiblement et modérément positifs du panel se composaient soit de transcrits *in vitro* (*in vitro* transcript, IVT), soit de cellules de culture infectées par HPV dans un milieu pour transport d'échantillon Aptima.

Tableau 6 : Panel de reproductibilité du Aptima HPV assay

Membre du panel	Description	Concentration	Résultat HPV attendu
1	STM Lot 1	S.O.	Négatif
2	Faiblement positif SiHa	1 cellule/réaction	Positif
3	Faiblement positif HeLa	0,15 cellule/réaction	Positif
4	Groupe clinique 1	S.O.	Négatif
5	Modérément positif ME180	1 cellule/réaction	Positif
6	Modérément positif MS751	1 cellule/réaction	Positif
7	Modérément positif SiHa et HeLa	10 cellules/réaction et 1 cellule/réaction	Positif
8	STM Lot 2	S.O.	Négatif
9	Groupe clinique 2	S.O.	Négatif
10	Faiblement positif IVT HPV 16	30 copies/réaction	Positif
11	Faiblement positif IVT HPV 18	30 copies/réaction	Positif
12	STM Lot 3	S.O.	Négatif
13	Modérément positif IVT HPV 16	100 copies/réaction	Positif
14	Modérément positif IVT HPV 18	100 copies/réaction	Positif
15	Modérément positif HPV 16 et HPV 18	100/100 copies/réaction	Positif
16	Groupe clinique 3	S.O.	Négatif

Cent huit points de données pour chaque échantillon du panel de reproductibilité ont été analysés pour les DTS Systems ; leurs résultats sont résumés dans le tableau 7. Le pourcentage de positifs pour les panels négatifs s'est situé entre 0 et 3,7, le pourcentage de faiblement positifs était ≥ 98 , et celui de modérément positifs de 100. La concordance avec le résultat attendu était $> 96 \%$ pour tous les membres des panels.

Le S/CO moyen du IC a été déterminé pour les 6 échantillons négatifs du panel (1, 4, 8, 9, 12 et 16) ; la variabilité inter-appareil, inter-opérateur, inter-lot et inter-série a été calculée, de même que la variabilité intra-série. Le S/CO IC moyen pour les membres négatifs du panel s'est situé entre 1,76 et 1,92. Le coefficient de variation (CV) des valeurs S/CO IC a été très bas, situé à $< 10 \%$ pour tous les paramètres évalués. La variabilité des valeurs du S/CO analyte pour les membres négatifs du panel n'a pas été analysée pour ces membres en raison de la variabilité inhérente lorsque l'on observe des valeurs de zéro.

Le S/CO analyte moyen a été déterminé pour les 10 membres positifs du panel (2-3, 5-7, 10-11 et 13-15) ; la variabilité inter-appareil, inter-opérateur, inter-lot et inter-série a été calculée, de même que la variabilité intra-série. Les valeurs moyennes du S/CO analyte se sont situées entre 9,00 et 10,70 pour les panels faiblement positifs et entre 8,84 et 15,75 pour les panels modérément positifs. Les deux membres de panel contenant 2 types de HPV à haut risque, soit 7 et 15, ont présenté des valeurs moyennes de S/CO analyte de 22,90 et

23,37 respectivement. Les CV des membres faiblement et modérément positifs du panel étaient respectivement < 35 % et < 15 %, montrant la plus haute variabilité observée dans une série. Les valeurs du S/CO du IC n'ont pas été évaluées pour les échantillons positifs du panel étant donné que les valeurs RLU du IC ne sont pas représentatives de la performance d'une réaction individuelle dans un échantillon positif pour l'analyte.

Tableau 7 : Reproductibilité du Aptima HPV assay sur les DTS Systems

					S/CO moyen		Analyse de variabilité S/CO*											
							Inter-appareil		Inter-opérateur		Inter-lot		Inter-série		Intra-série		Total	
Membre du panel	Description	N	% positif	Concordance	IC	Analyte	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
1	Neg	108	0,0	100 %	1,92	0,00	0,0	0,0	0,0	1,5	0,0	1,9	0,0	0,7	0,1	5,8	0,1	6,3
2	Faib. pos.	108	99,1	98,1 %	S.O.	10,68	0,3	2,6	0,0	0,0	0,4	4,1	0,0	0,0	2,0	19,0	2,1	19,6
3	Faib. pos.	108	100	99,1 %	S.O.	10,65	0,5	4,7	0,0	0,0	0,3	2,5	0,3	3,0	2,4	22,3	2,5	23,1
4	Neg	108	0,0	100 %	1,80	0,00	0,0	2,1	0,0	1,8	0,0	0,2	0,0	0,7	0,1	6,6	0,1	7,2
5	Mod. pos.	107^	100	100 %	S.O.	8,84	0,2	1,8	0,1	0,8	0,2	2,3	0,0	0,0	0,6	7,2	0,7	7,8
6	Mod. pos.	108	100	100 %	S.O.	15,75	0,4	2,4	0,4	2,6	1,1	7,0	0,1	0,9	0,6	3,9	1,4	8,7
7	Mod. pos.	107^	100	100 %	S.O.	22,90	0,7	3,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,1	9,1	2,2	9,7
8	Neg	108	0,0	100 %	1,85	0,00	0,0	0,0	0,0	2,2	0,0	1,1	0,0	1,5	0,1	6,1	0,1	6,8
9	Neg	108	3,7	96,3 %	1,76	0,06	0,0	0,0	0,1	3,6	0,0	0,0	0,0	1,3	0,1	7,5	0,1	8,4
10	Faib. pos.	108	99,1	99,1 %	S.O.	10,61	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,8	16,8	1,8	16,8
11	Faib. pos.	108	98,1	98,1 %	S.O.	9,04	0,0	0,0	0,4	4,1	0,0	0,0	0,9	10,0	2,9	32,6	3,1	34,3
12	Neg	108	0,0	100 %	1,85	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0	1,0	0,1	7,6	0,1	7,8
13	Mod. pos.	108	100	100 %	S.O.	10,99	0,1	1,4	0,1	0,8	0,0	0,2	0,0	0,0	0,4	3,9	0,5	4,2
14	Mod. pos.	108	100	100 %	S.O.	12,22	0,3	2,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,6	12,8	1,6	13,0
15	Mod. pos.	108	100	100 %	S.O.	23,37	0,7	2,8	0,3	1,5	0,0	0,0	0,1	0,6	2,5	10,5	2,6	11,0
16	Neg	108	0,9	99,1 %	1,79	0,03	0,0	2,3	0,0	1,7	0,0	0,0	0,0	1,1	0,1	7,5	0,1	8,1

*Analyse de variabilité du S/CO du IC pour les panels négatifs (1, 4, 8, 9, 12 et 16) ; analyse de la variabilité du S/CO d'analyte pour les panels positifs (2, 3, 5, 6, 7, 10, 11, 13, 14 et 15)

^1 réaction non valide n'a pas été retestée

S/CO = rapport signal/seuil

SD = écart-type

S.O. = sans objet

Réactivité croisée

La spécificité analytique du Aptima HPV assay a été évaluée avec le milieu PreservCyt dilué dans le milieu pour transport d'échantillon Aptima, auquel ont été ajoutés des cultures de bactéries, de levures ou de champignons microscopiques, ainsi que des cultures de virus ou des transcrits *in vitro* de HPV à faible risque. La sensibilité analytique a été évaluée avec le même panel auquel on a ajouté une faible concentration de cellules SiHa infectés par HPV (1 cellule par réaction). Les organismes et les concentrations testées sont identifiés dans le tableau 8. Aucun effet sur la spécificité ou la sensibilité du Aptima HPV assay n'a été observé avec chacun des organismes testés.

Tableau 8 : Panel de spécificité analytique

Organisme	Concentration testée	Organisme	Concentration testée
Bactéries			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Micrococcus luteus</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	2x10 ⁷ UFC/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	5x10 ⁷ UFC/ml	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Bacillus cereus</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Mycoplasma fermentans</i>	5x10 ⁷ UFC/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	5x10 ⁷ UFC/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Bifidobacterium breve</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae et Chlamydia trachomatis</i>	5x10 ⁸ UFC/ml 1,5x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
<i>Campylobacter fetus-fetus</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Neisseria meningitidis</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	2x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	<i>Peptoniphilus lacrimalis</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Clostridium difficile</i>	6x10 ⁷ UFC/ml	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Clostridium perfringens</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Proteus mirabilis</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Providencia stuartii</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia coli</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Ruminococcus productus</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Fingoldia magna</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Serratia marcescens</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Lactobacillus delbrueckii sous-espèce bulgaricus</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1x10 ⁸ UFC/ml

Tableau 8 : Panel de spécificité analytique (*suite*)

Organisme	Concentration testée	Organisme	Concentration testée
<i>Lactobacillus jensenii</i>	1x10 ⁸ UFC/ml		
Levures/protozoaires			
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1x10 ⁷ cellules/ml
Virus			
Adénovirus 2	1x10 ⁶ pv/ml	Virus de l'herpès simplex 1	2,5x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml
Cytomégalovirus	33 TCID ₅₀ /ml	Virus de l'herpès simplex 2	5x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
Virus Epstein-Barr	4x10 ⁷ pv/ml	SV40	1,2 x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
HIV-1	1,0x10 ⁶ copies/ml		
Génotypes du HPV non ciblés			
HPV 6	2,5x10 ⁶ copies/ml	HPV 53	2,5x10 ⁶ copies/ml
HPV 11	2,5x10 ⁶ copies/ml	HPV 61	2,5x10 ⁶ copies/ml
HPV 42	2,5x10 ⁶ copies/ml	HPV 71	2,5x10 ⁶ copies/ml
HPV 43	2,5x10 ⁶ copies/ml	HPV 81	2,5x10 ⁶ copies/ml
HPV 44	2,5x10 ⁶ copies/ml		

Interférence

Les substances décrites dans le tableau 9 ont été individuellement ajoutées dans la solution PreservCyt et le milieu pour transport d'échantillon Aptima (Specimen Transport Media, STM) à 1 % et 10 %, v/v ou p/v, et testées avec le Aptima HPV assay. Toutes les substances ont été testées en la présence ou l'absence de cellules de culture infectées par HPV (SiHa, 3 cellules/réaction). Il n'a pas été observé d'interférence avec aucune des substances testées, sauf pour deux des cinq lubrifiants qui contenaient du Polyquaternium 15 à des concentrations > 0,025 % dans l'échantillon de test, et un médicament antifongique contenant du tioconazole à des concentrations > 0,075 % dans l'échantillon de test.

Tableau 9 : Substances testées pour évaluer d'éventuelles interférences avec le Aptima HPV assay

Catégorie de produit	Type ou marque de produit
Lubrifiant	KY Sensual Mist (v/v)
	KY Warming Jelly (p/v)
	KY Warming Liquid (v/v)
	Lubrifiant personnel Astroglide*
	Liquide lubrifiant de marque ciblée*
Spermicide	Formule originale contraceptive vaginale Gynol II (p/v)
	Formule extra puissante contraceptive vaginale Gynol II (p/v)
	Mousse contraceptive vaginale Delfen (p/v)
	Contraceptif vaginal Encare (p/v)
	Contraceptif vaginal Conceptrol (p/v)
Médicament antifongique/antiprurigineux	Vagisil puissance maximale (p/v)
	Calmant Monistat (p/v)
	Pack combiné Monistat 3 (p/v)
	Tioconazole 1 de marque choisie Target (p/v)
	Miconazole 3 de marque choisie Target (p/v)
Acide acétique glacial	EMD M/N AX0073-11 (v/v)
Sang total	Sang total (v/v)

*Lubrifiants personnels contenant du Polyquaternium 15.

Résultats escomptés avec le Tigris DTS System : prévalence des ARNm (ARN messenger) des HPV à haut risque

La prévalence des infections au HPV à haut risque varie considérablement et est influencée par plusieurs facteurs, dont le plus important est l'âge.^{32,33} De nombreuses études ont analysé la prévalence du HPV en s'appuyant sur la détection de l'ADN (Acide désoxyribonucléique) du HPV ; cependant, peu d'études évaluent la prévalence en s'appuyant sur la détection des ARNm (ARN messenger) oncogènes des HPV. Des femmes provenant de divers sites cliniques (n = 18), représentant une vaste distribution géographique et une population variée (10 États au sein des États-Unis) ont été incluses dans une étude clinique prospective nommée essai CLEAR.³⁴ La prévalence des échantillons disposant des ARNm (ARN messenger) positifs au HPV observée dans l'essai clinique a été classée de manière globale, par groupe d'âge et par site de test. Les résultats sont indiqués dans le tableau 10 pour les populations avec des atypies des cellules malpighiennes de signification indéterminée (atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US) et les NLIM (négatif aux lésions intra-épithéliales ou malignes).

Tableau 10 : Prévalence des ARNm (ARN messenger) des HPV à haut risque par groupe d'âge, site de test et la combinaison de l'ensemble de ces facteurs

	Taux de positivité en % (x/n)	
	Population ASC-US (≥ 21 ans)	Population NLIM (≥ 30 ans)
Tous	41,8 (400/958)	5,0 (540/10 871)
Groupe d'âge (en années)		
21 à 29	60,3 (252/418)	S.O.
30 à 39	36,8 (98/266)	6,9 (289/4199)
≥ 40	18,2 (50/274)	3,8 (251/6672)
Site de test		
1	41,6 (134/322)	4,7 (172/3682)
2	41,4 (150/362)	5,2 (194/3702)
3	42,3 (116/274)	5,0 (174/3487)

S.O. = Sans objet

Conception de l'étude sur l'essai clinique portant sur le Aptima HPV Assay avec les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep

L'essai CLEAR, une étude clinique prospective multicentrique américaine, a été mené pour déterminer la performance clinique du Aptima HPV assay dans la détection des néoplasies cervicales intra-épithéliales de grade 2 ou des pathologies cervicales plus graves (\geq CIN2). L'essai CLEAR comprenait une évaluation initiale et une évaluation de suivi sur 3 ans.³⁴

Essai CLEAR - Évaluation initiale

Lors de l'évaluation initiale de l'essai TRIAL (phase initiale), les femmes ont été incluses soit dans le bras ASC-US, soit dans le bras NLIM, en fonction de leurs résultats cytologiques suite au dépistage de routine du cancer du col de l'utérus. La population du bras ASC-US comprenait des femmes de 21 ans et plus, avec des résultats cytologiques ASC-US, et la population du bras NLIM incluait des femmes de 30 ans ou plus avec des résultats cytologiques NLIM. L'étude NLIM a été conçue pour appuyer les demandes de dépistage complémentaire pour les femmes de 30 ans et plus ; en effet, les femmes de ce groupe d'âge présentant des résultats cytologiques plus sérieux que les ASC-US doivent subir une colposcopie, quel que soit leur statut HPV.³⁵

Des femmes issues de 18 sites cliniques, principalement des cliniques d'obstétrique/gynécologie, reflétant une vaste distribution géographique et une population diverse, ont été inscrites. Les femmes admissibles ont été assignées au bras ASC-US ou à l'étude NLIM en fonction de l'analyse de leur échantillon cytologique en milieu liquide ThinPrep de suivi. Lors de l'évaluation initiale, les échantillons résiduels de suivi, chez les femmes dans les études ASC-US et NLIM, ont été testés à la fois avec le Aptima HPV assay et un test HPV ciblant l'ADN disponible dans le commerce.

Lors de l'évaluation initiale, l'ensemble des femmes de l'étude ASC-US ont été orientées vers une colposcopie, quels qu'aient été les résultats de leur test HPV. Un curetage endocervical (CEC) et des biopsies cervicales à l'emporte-pièce (1 biopsie de chacun des 4 quadrants) ont été réalisées. En cas de lésion visible, une biopsie à l'emporte-pièce a été réalisée (méthode dirigée ; 1 biopsie par lésion) et les quadrants exempts de lésion visible ont été biopsiés à la jonction pavimento-cylindrique (méthode aléatoire).

Dans l'étude NLIM, les femmes dont les résultats se sont révélés positifs avec le Aptima HPV assay et/ou le test HPV ciblant l'ADN disponible dans le commerce, ainsi que les femmes sélectionnées au hasard et dont les résultats ont été négatifs avec les deux tests, ont été orientées vers une colposcopie pour l'évaluation initiale. Les femmes sélectionnées au hasard et dont les résultats ont été négatifs suite aux deux tests ont été incluses pour corriger le biais de vérification avec des estimations de performance corrigées, produites à l'aide d'une méthode d'imputation multiple. Une biopsie CEC a été réalisée sur chacune des femmes ayant subi une colposcopie. Les biopsies à l'emporte-pièce ont été réalisées uniquement sur les lésions visibles (méthode dirigée ; 1 biopsie par lésion).

Le statut de la maladie a été déterminé par un panel d'examen histologique consensuel, fondé sur l'accord d'au moins 2 pathologistes experts. Le statut HPV des femmes était inconnu des pathologistes experts. Aucun ne connaissait le statut cytologique ou les diagnostics histologiques réalisés par l'autre. Si les 3 pathologistes étaient en désaccord, ils devaient tous les trois examiner les lames sous un microscope à plusieurs têtes pour parvenir à un consensus. Les chercheurs, les cliniciens ainsi que les femmes n'ont pas eu connaissance des résultats du test HPV jusqu'à la réalisation de la colposcopie, afin d'éviter les biais.

Lors de l'évaluation initiale, la performance clinique du Aptima HPV assay pour la détection des \geq CIN2 et des néoplasies cervicales intra-épithéliales de grade 3 ou pour des maladies cervicales plus graves (\geq CIN3) a été évaluée par rapport au statut de la maladie cervicale, comme déterminé lors de l'évaluation initiale. La performance clinique du test HPV ciblant l'ADN disponible dans le commerce a également été déterminée en vue d'une comparaison directe avec les résultats du Aptima HPV assay.

Essai CLEAR - Évaluation de suivi

Les femmes dans l'étude NILM menée dans 14 sites cliniques pouvaient participer à la phase de suivi sur 3 ans de l'étude si : i) elles avaient une visite colposcopique lors de l'évaluation initiale et si elles ne présentaient pas de lésions \geq CIN2, ou ii) si elles n'avaient pas de visite colposcopique lors de l'évaluation initiale. La phase de suivi de l'étude comprenait des visites annuelles. Lors de ces visites, chaque femme était soumise à un prélèvement cervical pour un examen cytologique. Certaines femmes étaient testées avec un test HPV disponible dans le commerce. Les femmes révélant des résultats cytologiques ASC-US ou plus graves pendant la période de suivi étaient orientées vers une colposcopie en suivant les mêmes procédures de biopsie et d'examen histologique que celle de l'évaluation initiale dans le cadre de l'étude NILM. Lors d'une visite de suivi, le statut de la maladie cervicale était jugé négatif en fonction de la cytologie NILM, ou pour les femmes aux résultats de tests cytologiques anormaux, en fonction des résultats normaux ou du panel d'examen histologique consensuel CIN1. On considérait les femmes avec des lésions \geq CIN2 détectées pendant la période de suivi comme ayant terminé le suivi et n'avaient pas de visites après la détection de lésions \geq CIN2. On considérait que les femmes sans lésions \geq CIN2 détectées pendant la période de suivi mais participant à une visite d'étude au cours de l'année 1 de suivi et/ou l'année 2 de suivi et participant à une visite d'étude au cours de l'année 3 de suivi avaient terminé le suivi.

L'objectif de l'étude de suivi consistait à comparer le risque cumulé sur 3 ans des maladies cervicales chez les femmes avec des résultats de Aptima HPV assay positifs initiaux par rapport au risque cumulé sur 3 ans des maladies cervicales chez les femmes avec des résultats de Aptima HPV assay négatifs. Le statut de la maladie cervicale sur 3 ans était déterminé comme suit :

- Statut positif de la maladie cervicale (\geq CIN2 et/ou \geq CIN3) – Femmes avec des lésions \geq CIN2 détectées lors de l'évaluation initiale ou lors du suivi.
- Statut négatif de la maladie cervicale ($<$ CIN2) – Femmes ayant terminé un suivi sans lésions \geq CIN2 détectées et qui n'avaient pas de statut indéterminé de la maladie cervicale.
- Statut indéterminé de la maladie cervicale – Femmes avec des résultats de tests cytologiques anormaux pendant le suivi et n'ayant donc pas de résultat du panel d'examen histologique consensuel, ou femmes avec une cytologie inappropriée lors de leur dernière visite.
- Pertes en cours de suivi – Femmes qui n'avaient pas terminé le suivi et qui n'avaient pas de statut indéterminé de la maladie cervicale.

Les performances cliniques du Aptima HPV assay pour détecter \geq CIN2 et \geq CIN3 étaient évaluées par rapport au statut de la maladie cervicale sur 3 ans.

Performances du test sur Tigris DTS System

Population ASC-US ≥ 21 ans : performance clinique du Aptima HPV assay avec les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep

L'étude ASC-US a inclus au total 1252 femmes de 21 ans ou plus avec des résultats cytologiques ASC-US. Parmi ces femmes, 294 ont été retirées de l'étude et 19 présentaient un diagnostic pathologique indéterminé ; elles ont toutes été exclues de l'analyse. Les 939 femmes évaluables restantes avaient 21 ans ou plus et disposaient de résultats cytologiques ASC-US, de résultats de Aptima HPV assay et d'un statut pathologique concluant. Quatre-vingt-onze (91) femmes présentaient des résultats ≥ CIN2 et quarante et une (41) des résultats ≥ CIN3. La prévalence des résultats ≥ CIN2 et ≥ CIN3 chez les femmes évaluables avec des résultats cytologiques ASC-US était respectivement de 9,7 % et de 4,4 %. Les résultats du Aptima HPV assay par rapport aux diagnostics du Panel D'examen Histologique Consensuel sont présentés dans le tableau 11.

Tableau 11 : Population ASC-US ≥ 21 ans : résultats du Aptima HPV assay par rapport au diagnostic du panel d'examen histologique consensuel

Résultat du Aptima HPV Assay*	Test ADN HPV	Diagnostic du panel d'examen histologique consensuel						
		Indéterminé**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	Total
Positif	Positif	6	170	113	41	32	1	363
Positif	Négatif	0	7	0	1	2	0	10
Positif	Aucun résultat***	0	14	11	0	2	0	27
Négatif	Positif	0	47	13	2	3	0	65
Négatif	Négatif	10	371	55	6	1	0	443
Négatif	Aucun résultat***	3	40	7	0	0	0	50
Total		19	649	199	50	40	1****	958

*Tous les résultats disposaient de résultats finaux valides (lors du test initial ou après la résolution des résultats initiaux non valides par la procédure).

**19 sujets ont subi une colposcopie mais n'ont pas pu bénéficier d'un diagnostic pour les raisons suivantes : < 5 échantillons de biopsie ont tous révélé des résultats histologiques normaux/CIN1 (n = 15), aucune biopsie n'a été prélevée (n = 3) et les lames de biopsie ont été perdues (n = 1).

***77 femmes avec des résultats issus du Aptima HPV assay n'avaient pas de résultats de test HPV ADN en raison, principalement, du volume insuffisant de l'échantillon cytologique.

****Un sujet a présenté un adénocarcinome in situ (AIS).

Dans le tableau 12 sont indiquées les estimations de performance clinique du Aptima HPV assay, incluant la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive (Valeur prédictive positive, VPP) et la valeur prédictive négative (valeur prédictive négative, VPN) pour la détection de ≥ CIN2 et ≥ CIN3 d'après l'évaluation de l'ensemble des biopsies, dont les biopsies dirigées uniquement, ainsi que les estimations du test HPV ADN disponible dans le commerce.

Tableau 12 : Population ASC-US ≥ 21 ans : performance du Aptima HPV assay et du test HPV ADN pour la détection de ≥ CIN2 et ≥ CIN3

	Performance	Aptima HPV Assay N = 939		Test HPV ADN N = 865*		
		Estimation	(95 % CI)	Estimation	(95 % CI)	
≥ CIN2	Totalité des biopsies					
	Sensibilité (%)	86,8 (79/91)	(78,4, 92,3)	88,8 (79/89)	(80,5, 93,8)	
	Spécificité (%)	62,9 (533/848)	(59,6, 66,0)	55,8 (433/776)	(52,3, 59,3)	
	VPP (%)	20,1 (79/394)	(18,1, 22,0)	18,7 (79/422)	(17,0, 20,4)	
	VPN (%)	97,8 (533/545)	(96,5, 98,8)	97,7 (433/443)	(96,2, 98,8)	
	Prévalence (%)	9,7 (91/939)		10,3 (89/865)		
	Biopsies dirigées**					
	Sensibilité (%)	93,3 (56/60)	(84,1, 97,4)	93,2 (55/59)	(83,8, 97,3)	
	Spécificité (%)	61,5 (539/876)	(58,3, 64,7)	54,5 (438/804)	(51,0, 57,9)	
	VPP (%)	14,2 (56/393)	(12,7, 15,6)	13,1 (55/421)	(11,7, 14,2)	
	VPN (%)	99,3 (539/543)	(98,3, 99,8)	99,1 (438/442)	(97,9, 99,7)	
	Prévalence (%)	6,4 (60/936)		6,8 (59/863)		
	≥ CIN3	Totalité des biopsies				
		Sensibilité (%)	90,2 (37/41)	(77,5, 96,1)	92,3 (36/39)	(79,7, 97,3)
Spécificité (%)		60,2 (541/898)	(57,0, 63,4)	53,3 (440/826)	(49,9, 56,6)	
VPP (%)		9,4 (37/394)	(8,1, 10,4)	8,5 (36/422)	(7,4, 9,4)	
VPN (%)		99,3 (541/545)	(98,3, 99,8)	99,3 (440/443)	(98,3, 99,8)	
Prévalence (%)		4,4 (41/939)		4,5 (39/865)		
Biopsies dirigées**						
Sensibilité (%)		93,1 (27/29)	(78,0, 98,1)	96,4 (27/28)	(82,3, 99,4)	
Spécificité (%)		59,6 (541/908)	(56,4, 62,7)	52,8 (441/836)	(49,4, 56,1)	
VPP (%)		6,9 (27/394)	(5,8, 7,6)	6,4 (27/422)	(5,5, 7,0)	
VPN (%)		99,6 (541/543)	(98,8, 100)	99,8 (441/442)	(98,9, 100)	
Prévalence (%)		3,1 (29/937)		3,2 (28/864)		

*74 femmes avec des résultats issus du Aptima HPV assay n'avaient pas de résultats de test HPV ADN en raison, principalement, du volume insuffisant de l'échantillon cytologique.

**Le résultat histologique consensuel est issu uniquement des résultats des biopsies dirigées. Les femmes n'ayant pas subi de biopsies dirigées montrent une colposcopie normale et sont comprises dans ces analyses dans la catégorie « non atteinte de lésion » (< CIN2 ou < CIN3, selon le cas). Un consensus n'a pas toujours été atteint lorsque seules les biopsies dirigées étaient incluses.

Lors de l'évaluation de la totalité des biopsies, les estimations de sensibilité clinique du Aptima HPV assay et du test DNA HPV disponible dans le commerce, pour lesquels les résultats de test sont disponibles pour la détection de \geq CIN2 et \geq CIN3, se sont révélées similaires (les différences dans les estimations de sensibilité ne sont pas apparues statistiquement significatives : différence de sensibilité = -2,3 % [IC à 95 % : -9,5 %, 4,8 %]). Les estimations de spécificité clinique du Aptima HPV assay pour la détection de \geq CIN2 et \geq CIN3 se sont révélées supérieures à celles du test DNA HPV disponible dans le commerce (les différences dans les estimations de spécificité étaient statistiquement significatives). Pour \geq CIN2, la différence de spécificité était de 6,8 % (IC à 95% : 4,9 %, 9,0 %). Les NPV étaient similaires ; cependant, pour la détection de \geq CIN2, le PPV du Aptima HPV assay était légèrement supérieur au PPV du test DNA HPV disponible dans le commerce (20,1 % contre 18,7 %).

Parmi les 91 cas de \geq CIN2, 60 (65,9 %) ont été identifiés par des biopsies dirigées et 31 (34,1 %) par des biopsies aléatoires et/ou CEC (donc par des biopsies qui n'étaient pas dirigées). Ces résultats sont comparables à ceux publiés dans d'autres études, dans lesquelles environ 25 % à 40 % de cas \geq CIN2 ont été identifiés à partir d'échantillons de biopsie aléatoire et/ou ECC uniquement.^{36,37} En s'appuyant uniquement sur les biopsies dirigées pour déterminer le statut pathologique (en supposant que les femmes n'ayant pas subi de biopsie dirigée avaient des résultats histologiques normaux du fait de l'absence de lésions visibles), la prévalence de \geq CIN2 et \geq CIN3 dans l'étude était respectivement de 6,4 % et 3,1 %. Les estimations de sensibilité clinique pour la détection de \geq CIN2 et \geq CIN3 étaient supérieures pour les deux tests utilisant les biopsies dirigées aux estimations calculées sur la base de la totalité des biopsies. Pour les deux tests, la spécificité clinique basée uniquement sur les biopsies dirigées était similaire à la spécificité obtenue à partir de la totalité des biopsies. De ce fait, en ne prenant en compte que les biopsies dirigées, la spécificité du Aptima HPV assay était nettement plus élevée que celle du test DNA HPV disponible dans le commerce.

Les estimations de performance clinique du Aptima HPV assay et du test DNA HPV disponible dans le commerce sont indiquées par groupe d'âge dans le tableau 13 et le tableau 14 (\geq CIN2 et \geq CIN3, respectivement, fondé sur l'évaluation de la totalité des biopsies).

Tableau 13 : Population ASC-US ≥ 21 ans : performance du Aptima HPV assay et d'un test HPV ADN pour la détection de ≥ CIN2 par groupe d'âge

	Performance	Aptima HPV Assay N = 939		Test HPV ADN N = 865*	
		Estimation	(95 % CI)	Estimation	(95 % CI)
21 à 29 ans		N = 415		N = 389	
	Sensibilité (%)	90,2 (55/61)	(80,2, 95,4)	94,9 (56/59)	(86,1, 98,3)
	Spécificité (%)	44,9 (159/354)	(39,8, 50,1)	35,5 (117/330)	(30,5, 40,8)
	VPP (%)	22,0 (55/250)	(19,6, 24,2)	20,8 (56/269)	(19,0, 22,5)
	VPN (%)	96,4 (159/165)	(93,0, 98,5)	97,5 (117/120)	(93,6, 99,4)
	Prévalence (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
30 à 39 ans		N = 262		N = 239	
	Sensibilité (%)	90,0 (18/20)	(69,9, 97,2)	80,0 (16/20)	(58,4, 91,9)
	Spécificité (%)	68,2 (165/242)	(62,1, 73,7)	61,6 (135/219)	(55,1, 67,8)
	VPP (%)	18,9 (18/95)	(14,7, 22,7)	16,0 (16/100)	(11,8, 19,6)
	VPN (%)	98,8 (165/167)	(96,5, 99,8)	97,1 (135/139)	(94,1, 99,1)
Prévalence (%)	7,6 (20/262)		8,4 (20/239)		
≥ 40 Années		N = 262		N = 237	
	Sensibilité (%)	60,0 (6/10)	(31,3, 83,2)	70,0 (7/10)	(39,7, 89,2)
	Spécificité (%)	82,9 (209/252)	(77,8, 87,1)	79,7 (181/227)	(74,0, 84,4)
	VPP (%)	12,2 (6/49)	(5,8, 18,4)	13,2 (7/53)	(6,9, 18,7)
	VPN (%)	98,1 (209/213)	(96,6, 99,4)	98,4 (181/184)	(96,6, 99,6)
Prévalence (%)	3,8 (10/262)		4,2 (10/237)		

*74 femmes avec des résultats du Aptima HPV assay n'avaient pas de résultats de test HPV ADN en raison, principalement, du volume insuffisant de l'échantillon cytologique.

Tableau 14 : Population ASC-US ≥ 21 ans : performance du Aptima HPV assay et d'un test HPV ADN dans la détection de ≥ CIN3 par groupe d'âge

	Performance	Aptima HPV Assay N = 939		Test HPV ADN N = 865*	
		Estimation	(95 % CI)	Estimation	(95 % CI)
21 à 29 ans		N = 415		N = 389	
	Sensibilité (%)	96,3 (26/27)	(81,7, 99,3)	100 (25/25)	(86,7, 100)
	Spécificité (%)	42,3 (164/388)	(37,5, 47,2)	33,0 (120/364)	(28,3, 38,0)
	VPP (%)	10,4 (26/250)	(8,9, 11,4)	9,3 (25/269)	(8,2, 10,0)
	VPN (%)	99,4 (164/165)	(97,2, 100)	100 (120/120)	(97,5, 100)
	Prévalence (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
30 à 39 ans		N = 262		N = 239	
	Sensibilité (%)	88,9 (8/9)	(56,5, 98,0)	77,8 (7/9)	(45,3, 93,7)
	Spécificité (%)	65,6 (166/253)	(59,6, 71,2)	59,6 (137/230)	(53,1, 65,7)
	VPP (%)	8,4 (8/95)	(5,2, 10,4)	7,0 (7/100)	(3,9, 9,1)
	VPN (%)	99,4 (166/167)	(97,6, 100)	98,6 (137/139)	(96,4, 99,8)
	Prévalence (%)	3,4 (9/262)		3,8 (9/239)	
≥ 40 Années		N = 262		N = 237	
	Sensibilité (%)	60,0 (3/5)	(23,1, 88,2)	80,0 (4/5)	(37,6, 96,4)
	Spécificité (%)	82,1 (211/257)	(77,0, 86,3)	78,9 (183/232)	(73,2, 83,6)
	VPP (%)	6,1 (3/49)	(1,6, 10,2)	7,5 (4/53)	(2,9, 10,7)
	VPN (%)	99,1 (211/213)	(98,0, 99,9)	99,5 (183/184)	(98,2, 100)
	Prévalence (%)	1,9 (5/262)		2,1 (5/237)	

*74 femmes avec des résultats du Aptima HPV assay n'avaient pas de résultats de test HPV ADN en raison, principalement, du volume insuffisant de l'échantillon cytologique.

Le risque absolu de maladie (\geq CIN2 et \geq CIN3, fondé sur l'évaluation de la totalité des biopsies) selon les résultats du Aptima HPV assay et le risque relatif de maladie selon les résultats positifs et négatifs du Aptima HPV assay sont présentés dans le tableau 15, ainsi que les estimations du test HPV ADN disponible dans le commerce. Le risque relatif de \geq CIN2 était de 9,1 (IC à 95 % : 5,0 ; 16,5), indiquant qu'une femme dont les résultats du Aptima HPV assay sont positifs a 9,1 fois plus de risques de développer une \geq CIN2 qu'une femme dont les résultats de Aptima HPV assay sont négatifs. Le risque relatif de \geq CIN3 était de 12,8 (IC à 95 % : 4,6 ; 35,6).

Tableau 15 : Population ASC-US \geq 21 ans : risques absolu et relatif de \geq CIN2 et \geq CIN3 d'après les résultats de Aptima HPV assay et d'un test HPV ADN

	Résultat du test	Aptima HPV Assay N = 939		Test HPV ADN N = 865*	
		Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)	Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)
\geq CIN2	Positif	20,1 (79/394) (18,1, 22,0)	9,1 (5,0, 16,5)	18,7 (79/422) (17,0, 20,4)	8,3 (4,4, 15,8)
	Négatif	2,2 (12/545) (1,2, 3,5)		2,3 (10/443) (1,2, 3,8)	
	Prévalence (%)	9,7 (91/939)		10,3 (89/865)	
\geq CIN3	Positif	9,4 (37/394) (8,1, 10,4)	12,8 (4,6, 35,6)	8,5 (36/422) (7,4, 9,4)	12,6 (3,9, 40,6)
	Négatif	0,7 (4/545) (0,2, 1,7)		0,7 (3/443) (0,2, 1,7)	
	Prévalence (%)	4,4 (41/939)		4,5 (39/865)	

*74 femmes avec des résultats issus de Aptima HPV assay n'avaient pas de résultats de test HPV ADN en raison, principalement, du volume insuffisant de l'échantillon cytologique.

Les estimations de risques absolu et relatif de maladie (\geq CIN2 et \geq CIN3, fondées sur l'évaluation de la totalité des biopsies) selon le Aptima HPV assay et le test DNA HPV disponible dans le commerce sont indiquées par groupe d'âge dans le tableau 16.

Tableau 16 : Population ASC-US \geq 21 ans : risques absolu et relatif de \geq CIN2 et \geq CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV assay et d'un test HPV ADN par groupe d'âge

	Âge	Résultat du test	Aptima HPV Assay N = 939		Test HPV ADN N = 865*	
			Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)	Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)
\geq CIN2	21 à 29 ans		N = 415		N = 389	
		Positif	22,0 (55/250) (19,6, 24,2)	6,1 (2,7, 13,7)	20,8 (56/269) (19,0, 22,5)	8,3 (2,7, 26,1)
		Négatif	3,6 (6/165) (1,5, 7,0)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Prévalence (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	30 à 39 ans		N = 262		N = 239	
		Positif	18,9 (18/95) (14,7, 22,7)	15,8 (3,8, 66,7)	16,0 (16/100) (11,8, 19,6)	5,6 (1,9, 16,1)
		Négatif	1,2 (2/167) (0,2, 3,5)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Prévalence (%)	7,6 (20/262)		8,4 (20/239)	
	\geq 40 ans		N = 262		N = 237	
Positif		12,2 (6/49) (5,8, 18,4)	6,5 (1,9, 22,2)	13,2 (7/53) (6,9, 18,7)	8,1 (2,2, 30,2)	
Négatif		1,9 (4/213) (0,6, 3,4)		1,6 (3/184) (0,4, 3,4)		
Prévalence (%)		3,8 (10/262)		4,2 (10/237)		
\geq CIN3	21 à 29 ans		N = 415		N = 389	
		Positif	10,4 (26/250) (8,9, 11,4)	17,2 (2,4, 125)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Non calculable
		Négatif	0,6 (1/165) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Prévalence (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	30 à 39 ans		N = 262		N = 239	
		Positif	8,4 (8/95) (5,2, 10,4)	14,1 (1,8, 111)	7,0 (7/100) (3,9, 9,1)	4,9 (1,0, 22,9)
		Négatif	0,6 (1/167) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Prévalence (%)	3,4 (9/262)		3,8 (9/239)	
	\geq 40 ans		N = 262		N = 237	
Positif		6,1 (3/49) (1,6, 10,2)	6,5 (1,1, 38,0)	7,5 (4/53) (2,9, 10,7)	13,9 (1,6, 122)	
Négatif		0,9 (2/213) (0,1, 2,0)		0,5 (1/184) (0,0, 1,8)		
Prévalence (%)		1,9 (5/262)		2,1 (5/237)		

*74 femmes avec des résultats du test Aptima HPV assay n'avaient pas de résultats de test HPV ADN en raison, principalement, du volume insuffisant de l'échantillon cytologique.

Population NLIM ≥ 30 ans : performance clinique du Aptima HPV assay avec des échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep lors de l'évaluation initiale

Au total, 11 644 femmes avec des résultats cytologiques NLIM ont été incluses dans l'étude NLIM. Parmi celles-ci, 773 ont été retirées et exclues de l'évaluation initiale. Les 10 871 femmes évaluables restantes étaient âgées de 30 ans ou plus et disposaient de résultats cytologiques NLIM et de résultats de Aptima HPV assay. Parmi les 540 femmes avec des résultats positifs avec le Aptima HPV assay, 335 ont subi une colposcopie. Sur les 10 331 femmes avec des résultats négatifs avec le Aptima HPV assay, 530 ont subi une colposcopie. Vingt (20) femmes présentaient des lésions ≥ CIN2 et onze (11) des lésions ≥ CIN3 ; 799 femmes présentaient une histologie normale/CIN1 ; 46 femmes avaient un statut pathologique indéterminé. Les résultats du Aptima HPV assay par rapport au diagnostic du Panel D'examen Histologique Consensuel sont présentés dans le tableau 17.

Tableau 17 : Population NLIM ≥ 30 ans : résultats du Aptima HPV assay et du test HPV ADN par le panel d'examen histologique consensuel lors de l'évaluation initiale

Résultat du Aptima HPV assay*	Test HPV ADN	Diagnostic du panel d'examen histologique consensuel						
		Indéterminé	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	Total
Positif	Positif	11	212	11	4	7	2	247
Positif	Négatif	7	59	0	1	0	1	68
Positif	Aucun résultat**	3	16	1	0	0	0	20
Négatif	Positif	10	170	8	2	1	0	191
Négatif	Négatif	15	313	9	1	0	0	338
Négatif	Aucun résultat**	0	0	0	1	0	0	1
Total		46	770	29	9	8	3***	865

*Tous les échantillons disposaient de résultats finaux valides (lors du test initial ou après la résolution des résultats initiaux non valides par la procédure).

**Vingt-et-un (21) femmes avec des résultats issus du Aptima HPV assay n'avaient pas de résultats de test HPV ADN en raison, principalement, du volume insuffisant de l'échantillon cytologique.

***Trois femmes ont présenté un adénocarcinome in situ (AIS).

Au total, 10 052 femmes présentaient un statut pathologique non vérifié (incluant les statuts indéterminés) (tableau 18). La proportion de femmes avec un statut pathologique non vérifié était élevé dans ce groupe (96,6 %) puisque seules les femmes sélectionnées aléatoirement, disposant de résultats négatifs au Aptima HPV assay et au test DNA HPV disponible dans le commerce, ont été orientées vers une colposcopie. Pour corriger ce biais de vérification, une méthode d'imputation multiple a été utilisée pour estimer le nombre de femmes malades qui aurait été identifié si l'ensemble des femmes avaient subi une colposcopie. Les estimations de performance corrigées pour tenir compte du biais de vérification et les estimations de performance non corrigées basées sur les 819 femmes disposant d'un statut pathologique vérifié ont été présentées.

Tableau 18 : Population NLIM ≥ 30 ans : classification des femmes NLIM évaluables d'après les résultats du Aptima HPV assay et du test DNA HPV, le statut pathologique (≥ CIN2 et ≥ CIN3) et le statut de vérification de la maladie

Résultat du Aptima HPV Assay*	Test DNA HPV	Total femmes	Statut pathologique vérifié : ≥ CIN2		Statut pathologique vérifié : ≥ CIN3		Statut pathologique non vérifié
			Femmes atteintes de lésions (≥ CIN2)	Femmes non atteintes de lésions (< CIN2)	Femmes atteintes de lésions (≥ CIN3)	Femmes non atteintes de lésions (< CIN3)	Femmes avec un statut pathologique inconnu (% inconnu)
Positif	Positif	360	13	223	9	227	124 (34,4%)
Positif	Négatif	150	2	59	1	60	89 (59,3%)
Positif	Aucun résultat**	30	0	17	0	17	13 (43,3%)
Négatif	Positif	306	3	178	1	180	125 (40,8%)
Négatif	Négatif	9420	1	322	0	323	9097 (96,6%)
Négatif	Aucun résultat**	605	1	0	0	1	604 (99,8%)
Total		10 871	20	799	11	808	10 052 (92,5%)

*Tous les échantillons disposaient de résultats finaux valides (lors du test initial ou après résolution des résultats initiaux non valides par la procédure).

**635 femmes avec des résultats issus du Aptima HPV assay n'avaient pas de résultats de test DNA HPV en raison, principalement, du volume insuffisant de l'échantillon cytologique.

La prévalence corrigée de \geq CIN2 et \geq CIN3 chez les femmes avec des résultats cytologiques NLIM était respectivement de 0,9 % et 0,4 %. Les estimations corrigées des risques absolu et relatif pour la détection de \geq CIN2 et \geq CIN3 sont indiquées dans le tableau 19. Le risque relatif corrigé de \geq CIN2 était de 8,1 (IC à 95 % : 2,3 ; 28,1), indiquant qu'une femme avec des résultats positifs avec le Aptima HPV assay a 8,1 fois plus de risques de développer des lésions \geq CIN2 qu'une femme dont les résultats du Aptima HPV assay sont négatifs. Le risque relatif corrigé de \geq CIN3 était de 34,5 (IC à 95 % : 2,7 ; 443,3). Les estimations non corrigées des risques absolu et relatif pour la détection de \geq CIN2 et \geq CIN3 sont indiquées de manière globale dans le tableau 20 et par groupe d'âge dans le tableau 21.

Tableau 19 : Population NLIM \geq 30 ans : risques absolu et relatif de \geq CIN2 et \geq CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV assay et d'un test DNA HPV (estimations corrigées pour tenir compte du biais de vérification)

Résultat du test		Aptima HPV Assay		Test DNA HPV	
		Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)	Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)
\geq CIN2	Positif	4,7 (2,9, 7,6)	8,1 (2,3, 28,1)	3,7 (2,3, 6,0)	7,3 (1,6, 33,4)
	Négatif	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Prévalence (%)	0,9		0,9	
\geq CIN3	Positif	3,3 (1,4, 7,6)	34,5 (2,7, 443,3)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,4)
	Négatif	0,1 (0,0, 1,6)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Prévalence (%)	0,4		0,4	

Tableau 20 : Population NLIM \geq 30 ans : risques absolu et relatif de \geq CIN2 et \geq CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV assay et d'un test DNA HPV (estimations non corrigées)

Résultat du test		Aptima HPV Assay N = 819		Test DNA HPV N = 801*	
		Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)	Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)
\geq CIN2	Positif	4,8 (15/314) (3,4, 5,8)	4,8 (1,8, 13,1)	3,8 (16/417) (2,9, 4,4)	4,9 (1,4, 16,7)
	Négatif	1,0 (5/505) (0,4, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Prévalence (%)	2,4 (20/819)		2,4 (19/801)	
\geq CIN3	Positif	3,2 (10/314) (2,2, 3,7)	16,1 (2,1, 125)	2,4 (10/417) (1,6, 2,7)	9,2 (1,2, 71,6)
	Négatif	0,2 (1/505) (0,0, 0,9)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Prévalence (%)	1,3 (11/819)		1,4 (11/801)	

*18 femmes avec des résultats issus du Aptima HPV assay n'avaient pas de résultats de test DNA HPV en raison, principalement, du volume insuffisant de l'échantillon cytologique.

Tableau 21 : Population NLIM ≥ 30 ans : risques absolu et relatif de ≥ CIN2 et ≥ CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV assay et d'un test DNA HPV par groupe d'âge (estimations non corrigées)

	Âge	Résultat du test	Aptima HPV Assay N = 819		Test DNA HPV N = 801*	
			Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)	Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)
≥ CIN2	30 à 39 ans		N = 384		N = 377	
		Positif	4,8 (8/167) (2,1, 9,2)	10,4 (1,3, 82,3)	3,2 (7/216) (1,3, 6,6)	2,6 (0,5, 12,4)
		Négatif	0,5 (1/217) (0,0, 2,5)		1,2 (2/161) (0,2, 4,4)	
		Prévalence (%)	2,3 (9/384)		2,4 (9/377)	
	≥ 40 Années		N = 435		N = 424	
		Positif	4,8 (7/147) (1,9, 9,6)	3,4 (1,0, 11,5)	4,5 (9/201) (2,1, 8,3)	10,0 (1,3, 78,1)
		Négatif	1,4 (4/288) (0,4, 3,5)		0,4 (1/223) (0,0, 2,5)	
		Prévalence (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
≥ CIN3	30 à 39 ans		N = 384		N = 377	
		Positif	3,0 (5/167) (1,0, 6,8)	6,5 (0,8, 55,1)	2,3 (5/216) (0,8, 5,3)	3,7 (0,4, 31,6)
		Négatif	0,5 (1/217) (0,0, 2,5)		0,6 (1/161) (0,0, 3,4)	
		Prévalence (%)	1,6 (6/384)		1,6 (6/377)	
	≥ 40 Années		N = 435		N = 424	
		Positif	3,4 (5/147) (1,1, 7,8)	Non calculable	2,5 (5/201) (0,8, 5,7)	Non calculable
		Négatif	0,0 (0/288) (0,0, 1,3)		0,0 (0/223) (0,0, 1,6)	
		Prévalence (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

*18 femmes avec des résultats issus du Aptima HPV assay n'avaient pas de résultats de test DNA HPV en raison, principalement, du volume insuffisant de l'échantillon cytologique.

Les estimations corrigées de performance clinique du Aptima HPV assay, incluant la sensibilité, la spécificité, le PPV et le NPV dans la détection de \geq CIN2 et \geq CIN3 sont indiquées dans le tableau 22, ainsi que les estimations du test DNA HPV disponible dans le commerce. Les estimations non corrigées de performance clinique sont indiquées dans le tableau 23. Le Aptima HPV assay et le test DNA HPV disponible dans le commerce ont montré une sensibilité similaire ; en revanche, la spécificité était nettement plus élevée pour le Aptima HPV assay (les IC à 95 % ne se chevauchent pas). Les estimations du coefficient de prévision du Aptima HPV assay étaient cliniquement cohérentes et similaires aux estimations du test DNA HPV disponible dans le commerce. Les NPV étaient similaires ; cependant, pour la détection de \geq CIN2, le PPV du Aptima HPV assay était légèrement supérieur au PPV du test DNA HPV disponible dans le commerce (4,7 % contre 3,7 %).

Tableau 22 : Population NLIM \geq 30 ans : performance du Aptima HPV assay et d'un test DNA HPV pour la détection de \geq CIN2 et \geq CIN3 (estimations corrigées pour tenir compte du biais de vérification)

	Performance	Aptima HPV Assay		Test DNA HPV	
		Estimation	(95 % CI)	Estimation	(95 % CI)
\geq CIN2	Sensibilité (%)	31,0	(5,9, 56,1)	35,4	(3,8, 66,9)
	Spécificité (%)	95,2	(94,8, 95,6)	93,7	(93,2, 94,2)
	PPV (%)	4,7	(2,9, 7,6)	3,7	(2,3, 6,0)
	NPV (%)	99,4	(98,1, 99,8)	99,5	(97,9, 99,9)
	Prévalence (%)	0,9		0,9	
\geq CIN3	Sensibilité (%)	61,5	(14,0, 100)	56,4	(0,4, 100)
	Spécificité (%)	95,2	(94,8, 95,6)	93,6	(93,1, 94,1)
	PPV (%)	3,3	(1,4, 7,6)	2,3	(1,3, 4,1)
	NPV (%)	99,9	(98,4, 100)	99,9	(97,6, 100)
	Prévalence (%)	0,4		0,4	

Tableau 23 : Population NLIM ≥ 30 ans : performance du Aptima HPV assay et d'un test DNA HPV pour la détection de ≥ CIN2 et ≥ CIN3 (estimations non corrigées)

	Performance	Aptima HPV Assay N = 819		Test DNA HPV N = 801*	
		Estimation	(95 % CI)	Estimation	(95 % CI)
≥ CIN2	Sensibilité (%)	75,0 (15/20)	(53,1, 88,8)	84,2 (16/19)	(62,4, 94,5)
	Spécificité (%)	62,6 (500/799)	(59,2, 65,9)	48,7 (381/782)	(45,2, 52,2)
	PPV (%)	4,8 (15/314)	(3,4, 5,8)	3,8 (16/417)	(2,9, 4,4)
	NPV (%)	99,0 (500/505)	(98,1, 99,6)	99,2 (381/384)	(98,1, 99,8)
	Prévalence (%)	2,4 (20/819)		2,4 (19/801)	
≥ CIN3	Sensibilité (%)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)
	Spécificité (%)	62,4 (504/808)	(59,0, 65,7)	48,5 (383/790)	(45,0, 52,0)
	PPV (%)	3,2 (10/314)	(2,2, 3,7)	2,4 (10/417)	(1,6, 2,7)
	NPV (%)	99,8 (504/505)	(99,1, 100)	99,7 (383/384)	(98,9, 100)
	Prévalence (%)	1,3 (11/819)		1,4 (11/801)	

*18 femmes avec des résultats issus du Aptima HPV assay n'avaient pas de résultats de test DNA HPV en raison, principalement, du volume insuffisant de l'échantillon cytologique.

La comparaison directe du Aptima HPV assay et du test HPV ADN disponible dans le commerce démontre une sensibilité similaire et une amélioration statistiquement significative de la spécificité du Aptima HPV assay pour la détection de \geq CIN2 par rapport au test HPV ADN disponible dans le commerce, comme l'indiquent les ratios des taux de vrais positifs et de faux positifs (tableau 24 et tableau 25, respectivement).

Tableau 24 : Population NLIM \geq 30 ans : ratio des taux de vrais positifs (Aptima HPV assay/test HPV ADN) chez les femmes avec \geq CIN2 (estimations non corrigées)

		Test DNA HPV		Total
		Positif	Négatif	
Aptima HPV Assay	Positif	13	2	15 (78,9%)
	Négatif	3	1	4
	Total	16 (84,2%)	3	19
Ratio des taux de vrais positifs = 0,94 (15/16) (IC à 95 % : 0,67 ; 1,20)				

Tableau 25 : Population NLIM \geq 30 ans : ratio des taux de faux positifs (Aptima HPV assay/test HPV ADN) chez les femmes avec $<$ CIN2 (estimations non corrigées)

		Test HPV ADN		Total
		Positif	Négatif	
Aptima HPV Assay	Positif	223	59	282 (36,1%)
	Négatif	178	322	500
	Total	401 (51,3%)	381	782
Ratio des taux de faux positifs = 0,70 (282/401) (IC à 95 % : 0,64 ; 0,77)				

Population NLIM ≥ 30 ans : performance clinique du Aptima HPV assay après 3 ans de suivi

On comptait 10 854 femmes, âgées d'au moins 30 ans, aux résultats cytologiques NILM et Aptima HPV assay valides, lors de l'évaluation initiale, qui pouvaient participer à la phase de suivi. Parmi les femmes sans lésions ≥CIN2, 66,9 % (7 251/10 834) d'entre elles ont eu une visite Pap de suivi pour l'année 1, 60,2 % (6 522/10 825) pour l'année 2, et 58,6 % (6 344/10 818) pour l'année 3. En tout, 58,8 % (6 380/10 854) des femmes ont terminé l'étude (avec ≥CIN2 lors de l'évaluation initiale ou lors du suivi, et/ou ont terminé les visites requises).

Parmi les 10 854 femmes, 540 (5,0 %) ont enregistré des résultats positifs au Aptima HPV assay lors de l'évaluation initiale. Parmi les 540 femmes, 263 (48,7 %) ont présenté un statut de la maladie sur 3 ans positif ou négatif d'après les résultats cytologiques ou coloscopiques/cytologiques. Les 10 314 autres femmes ont enregistré des résultats négatifs au Aptima HPV assay lors de l'évaluation initiale. Parmi les 10 314 femmes, 5 943 (57,6 %) ont présenté un statut de la maladie sur 3 ans positif ou négatif. Parmi les 6 206 femmes au statut de la maladie sur 3 ans, 47 d'entre elles ont présenté ≥CIN2, dont 23 avec ≥CIN3 ; 6 159 femmes ont présenté des résultats normaux/CIN1 par le panel d'examen histologique consensuel. Le Tableau 26 affiche les résultats de l'évaluation initiale au Aptima HPV assay et au test HPV ADN disponible dans le commerce, ainsi que le statut de la maladie sur 3 ans (y compris l'évaluation initiale et l'évaluation de suivi) par le panel d'examen histologique consensuel.

Tableau 26 : population NLIM ≥ 30 ans : classification des femmes admissibles à la phase de suivi d'après les résultats de l'évaluation initiale au Aptima HPV assay, les résultats de l'évaluation initiale au test HPV ADN et le statut de la maladie (≥CIN2, ≥CIN3, Non vérifié), comme déterminé dans les phases d'évaluation initiale et de suivi

Résultat au Aptima HPV Assay	Test HPV ADN	Ensemble des femmes	Statut vérifié de maladie : ≥CIN2		Statut vérifié de maladie : ≥CIN3		Statut non vérifié de maladie	
			Femmes atteintes (≥CIN2)	Femmes non atteintes (<CIN2)	Femmes atteintes (≥CIN3)	Femmes non atteintes (<CIN3)	Pertes en cours de suivi	Indéterminé*
Positif	Positif	360	22	154	15	161	165	19
Positif	Négatif	150	2	72	1	73	68	8
Positif	Pas de résultat**	30	2	11	1	12	14	3
Négatif	Positif	304	6	146	3	149	133	19
Négatif	Négatif	9405	14	5455	3	5466	3735	201
Négatif	Pas de résultat**	605	1	321	0	322	269	14
Total		10854	47	6159	23	6183	4384	264

*Les femmes qui avaient des résultats de test cytologiques anormaux lors de la période de suivi et qui n'avaient pas de résultat suivant du panel d'examen histologique consensuel et les femmes avec une cytologie inadéquate à leur dernière visite. 174 femmes avec un statut de maladie indéterminé ont terminé la phase de suivi selon le protocole.

**635 femmes avec les résultats au Aptima HPV assay n'ont pas eu de résultats au test HPV DNA principalement en raison du volume insuffisant d'échantillons cytologiques.

Les résultats de risque de maladie cumulatif sur 3 ans (≥CIN2 et ≥CIN3) se fondent sur l'estimation Kaplan-Meier (analyse de table de survie) et comprennent une maladie détectée lors de l'évaluation initiale ou de suivi. Les femmes, qui présentaient des symptômes de maladie (ASC-US ou résultats cytologiques plus graves) mais sans résultat du panel d'examen histologique consensuel, ont été incluses dans l'analyse en utilisant une méthode d'imputation multiple pour prédire le nombre de femmes souffrant de la maladie qui auraient été identifiées si elles avaient subi une coloscopie.

Les estimations des risques absolus et relatifs cumulatifs sur 3 ans pour la détection des \geq CIN2 et \geq CIN3 sont présentées dans le Tableau 27.

Tableau 27: opulation NLIM \geq 30 ans : risques absolus et relatifs cumulatifs sur 3 ans* de \geq CIN2 et \geq CIN3 pour les résultats au Aptima HPV Assay et à un Test HPV ADN lors de l'évaluation initiale

	Résultat à l'essai	Aptima HPV Assay		Test HPV ADN	
		Risque absolu (95% CI)	Risque relatif (95% CI)	Risque absolu (95% CI)	Risque relatif (95% CI)
\geq CIN2	Positif	7,39 (5,12, 10,59)	22,55 (12,68, 40,10)	6,42 (4,50, 9,13)	22,71 (12,19, 42,29)
	Négatif	0,33 (0,21, 0,51)		0,28 (0,17, 0,47)	
	Prévalence(%)	0,68		0,68	
\geq CIN3	Positif	4,66 (2,94, 7,36)	44,12 (16,91, 115,10)	4,14 (2,62, 6,52)	51,33 (17,74, 148,55)
	Négatif	0,11 (0,04, 0,25)		0,08 (0,03, 0,22)	
	Prévalence(%)	0,34		0,35	

*Les risques cumulatifs sur 3 ans ajustés pour d'autres biais possibles étaient semblables aux risques dans ce tableau. En raison des différences anticipées des risques au cours de l'année 1 et de l'année 2 pour les deux groupes de femmes dans l'étude de suivi (celles avec une colposcopie lors de l'évaluation initiale et celles sans colposcopie lors de l'évaluation initiale), seul le risque cumulatif sur 3 ans pour les groupes combinés a été reporté.

La prévalence cumulée sur 3 ans de \geq CIN2 et \geq CIN3 chez les femmes avec des résultats cytologiques NILM lors de l'évaluation initiale a été de 0,68 % et de 0,34 %. Le risque relatif de \geq CIN2 était de 22,55 (95 % CI : 12,68, 40,10), ce qui indique qu'une femme dont le résultat au Aptima HPV assay était positif a 22,55 fois plus de risques d'avoir \geq CIN2 qu'une femme dont le résultat était négatif. Le risque relatif de \geq CIN3 était de 44,12 (95 % CI : 16,91, 115,10).

Performances cliniques de l'Aptima HPV Assay avec des échantillons de cytologie en milieu liquide SurePath

Échantillons SurePath traités avec la solution de transfert Aptima

Des échantillons de cytologie en milieu liquide SurePath (n = 558) ont été collectés auprès de femmes canadiennes lors d'une consultation de suivi en raison d'un ou plusieurs frottis anormaux, d'une infection HPV ou d'autres motifs. Un aliquot (0,5 ml) de chaque échantillon a été transféré dans un tube de transfert d'échantillons Aptima puis traité à l'aide de la solution de transfert Aptima. Un seul réplicat de chaque échantillon a été testé avec l'Aptima HPV assay. Un aliquot distinct (1 ml) de chaque échantillon a été prélevé afin d'être évalué à l'aide d'un test de détection de HPV par PCR disponible dans le commerce. La sensibilité clinique pour la détection de la pathologie, définie comme un résultat histologique de grade CIN3 ou plus, a été calculée pour l'Aptima HPV assay et le test de détection de HPV par PCR grâce aux coefficients de prévision positifs et négatifs, comme illustré dans le tableau 28.

Tableau 28 : Performances de l'Aptima HPV assay et d'un test de détection de HPV par PCR pour la détection de lésions de grade CIN3 ou plus

Performances	Aptima HPV Assay N = 558		Test de détection de HPV par PCR N = 558	
	Estimation	(IC à 95 %)	Estimation	(IC à 95 %)
Sensibilité (%)	89,3 (25/28)	(72,8-96,3)	89,3 (25/28)	(72,8-96,3)
Spécificité (%)	56,8 (301/530)	(52,5-60,9)	49,1 (260/530)	(44,8-53,3)
PPV (%)	9,8 (25/254)	(8,1-11,2)	8,5 (25/295)	(7,0-9,5)
NPV (%)	99,0 (301/304)	(97,6-99,8)	98,9 (260/263)	(97,2-99,7)
Prévalence (%)	5,0 (28/558)		5,0 (28/558)	

Tableau 29 : Sensibilité du Aptima HPV assay avec les échantillons cytologiques en milieu liquide SurePath et ThinPrep

Génotype du HPV	Copies/ réaction	ThinPrep	SurePath
		% positif (IC à 95 %)	% positif (IC à 95 %)
16	60	98,3 (91,1-99,7)	100 (94,0-100)
18	100	100 (94,0-100)	100 (94,0-100)
31	25	100 (94,0-100)	95,0 (86,3-98,3)
33	60	96,7 (88,6-99,1)	98,3 (91,1-99,7)
35	25	100 (94,0-100)	100 (94,0-100)
39	25	100 (94,0-100)	91,7 (81,9-96,4)
45	40	100 (94,0-100)	95,0 (86,3-98,3)
51	250	100 (94,0-100)	100 (94,0-100)
52	600	100 (94,0-100)	98,3 (91,1-99,7)
56	100	98,3 (91,1-99,7)	93,3 (84,1-97,4)
58	50	95,0 (86,3-98,3)	93,3 (84,1-97,4)
59	75	96,7 (88,6-99,1)	91,7 (81,9-96,4)
66	150	98,3 (91,1-99,7)	95,0 (86,3-98,3)
68	30	96,7 (88,6-99,1)	93,3 (84,1-97,4)

Performance du Aptima HPV Assay avec les échantillons recueillis dans des kits de prélèvements et de transports des échantillons cervicaux

Des échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep et des échantillons recueillis dans des CSCT ont été appariés et recueillis sur 735 sujets. Un millilitre (1,0 ml) de chaque échantillon cytologique en milieu liquide ThinPrep a été dilué dans 2,9 ml de milieu pour transport d'échantillon Aptima et un seul réplicat a été testé avec le Aptima HPV assay sur le Tigris DTS System. Un seul réplicat de chaque échantillon CSCT a été également testé avec le Aptima HPV assay. Le pourcentage de concordance du Aptima HPV assay entre l'échantillon cytologique en milieu liquide ThinPrep et l'échantillon CSCT a été établi et les résultats sont indiqués dans le tableau 30.

Le pourcentage de concordance positive était de 95,9 % (IC à 95 % : 92,6-97,8) ; le pourcentage de concordance négative était de 95,5 % (IC à 95 % : 93,3-97,0) ; et le pourcentage de concordance globale était de 95,6 % (IC à 95 % : 93,9-96,9). On a pu observer une corrélation étroite entre les échantillons cytologiques en milieu liquide et ceux du kit de transport ($\kappa = 0,90$)

Tableau 30 : Concordance globale des résultats du Aptima HPV assay obtenus avec les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep et ceux du kit de collecte et de transport pour échantillon cervical testé sur le Tigris DTS System

		Échantillon cytologique en milieu liquide ThinPrep		Total
		Positif	Négatif	
Échantillon du kit CSCT Aptima	Positif	234	22	256
	Négatif	10	469	479
	Total	244	491	735

Concordance positive = 95,9% (92,6-97,8)

Concordance négative = 95,5% (93,3-97,0)

Concordance globale= 95,6% (93,9-96,9)

Coefficient Kappa = 0,90

Sensibilité analytique

Le seuil de détection (SD) du seuil clinique est une concentration de ARN (Acide ribonucléique) du HPV qui donne un résultat positif (supérieur au seuil clinique) 95 % du temps. Le SD du Aptima HPV assay a été déterminé en testant des panels de dilution de transcrits *in vitro* (in vitro transcript, IVT) des 14 génotypes à haut risque et de 4 lignées cellulaires infectées par le HPV : SiHa, HeLa, MS751 et ME180 (ATCC, Manassas, Virginie, États-Unis). Pour les panels d'IVT, le milieu pour transport d'échantillons a été supplémenté avec l'IVT à différentes concentrations, puis dilué avec des échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep individuellement négatifs, avant de procéder aux tests. Pour les panels de cellules infectées par le HPV, des groupes d'échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep négatifs pour le HPV ont été supplémentés avec des cellules infectées par le HPV à différentes concentrations, puis dilués avec du milieu pour transport d'échantillons, avant de procéder aux tests. Trente réplicats de chaque taux de copie ont été testés avec chacun des deux lots de réactifs pour un total de 60 réplicats. Les tests ont été exécutés sur une période de 14 jours, avec 1 à 12 séries réalisées par jour, chaque série comprenant le test de 5 réplicats d'un génotype et d'une concentration donnés. Le seuil de détection de 95 % a été calculé par une analyse de régression Probit des résultats de positivité pour chaque panel de dilution.

Les résultats de l'analyse Probit, dans le tableau 31, montrent que les types de HPV 16, 18, 31, 33, 35, 38, 45, 58, 59 et 68 avaient des seuils de détection de 95 % inférieurs à 100 copies/réaction et que les types 51, 52, 56 et 66 avaient des seuils de détection de 95 % entre 100 et 300 copies/réaction. Les seuils de détection de 95 % des quatre lignées cellulaires testées étaient inférieurs à 1 cellule/réaction.

Tableau 31 : Seuil de détection du seuil clinique pour le Aptima HPV assay

Cible	Seuil de détection* (IC à 95 %)
HPV 16	48,7 (36,6-72,2)
HPV 18	80,9 (60,4-118,4)
HPV 31	18,6 (14,2-27,3)
HPV 33	49,1 (37,0-71,3)
HPV 35	19,1 (14,2-29,1)
HPV 39	24,6 (19,1-34,4)
HPV 45	33,8 (25,7-49,4)
HPV 51	206,6 (157,5-297,7)
HPV 52	266,2 (205,5-373,8)
HPV 56	100,1 (81,9-129,9)
HPV 58	48,0 (37,3-68,7)
HPV 59	49,0 (36,4-75,9)
HPV 66	168,7 (129,6-241,1)
HPV 68	27,0 (20,3-40,1)
SiHa	0,30 (0,24-0,43)
HeLa	0,18 (0,14-0,29)
ME180	0,11 (0,09-0,16)
MS751	0,19 (0,14-0,33)

*Copies par réaction pour les transcrits *in vitro* et cellules par réaction pour les lignées cellulaires.

Précision du test

La précision du Aptima HPV assay a été évaluée dans deux études à l'aide du même panel de 20 échantillons. L'étude 1 a été menée dans 3 sites de test externes afin de déterminer la reproductibilité du test. L'étude 2 a été menée en interne pour mesurer la répétabilité du test. Le panel comprenait 10 échantillons positifs au HPV avec des concentrations égales ou supérieures au seuil de détection du test (positivité attendue : $\geq 95\%$), 4 échantillons positifs au HPV avec des concentrations inférieures au seuil de détection du test (positivité attendue : $> 0\%$ à $< 25\%$) et 6 échantillons négatifs au HPV. Les échantillons du panel positifs au HPV ont été préparés en ajoutant des transcrits de RNA (Acide ribonucléique) *in vitro* (*in vitro* transcripts, IVT) dans le milieu pour transport d'échantillon (specimen transport medium, STM) ou des cellules de culture infectées par HPV (SiHa, HeLa, ME180 et MS751 ; ATCC, Manassas, Virginia) dans la solution PreservCyt. Les échantillons du panel négatifs au HPV ont été préparés avec du STM ou des groupes d'échantillons cytologiques résiduels en milieu liquide ThinPrep.

Dans l'étude 1, 2 opérateurs présents sur chacun des 3 sites de test (1 appareil par site) ont réalisé 1 liste de travail du Aptima HPV assay par jour, pendant 3 jours, pour chacun des 3 lots de réactifs. Chaque liste de travail contenait 3 réplicats de chacun des échantillons du panel de reproductibilité. Cent soixante-deux (162) tubes d'échantillon individuel ont été testés pour chaque échantillon du panel (3 sites x 1 appareil x 2 opérateurs x 3 lots x 3 listes de travail x 3 réplicats). Dans l'étude 2, le test a été mené en interne pendant 20 jours avec un total de 162 réactions testées pour chaque échantillon du panel (1 site x 3 appareils x 3 opérateurs x 3 lots x 2 listes de travail x 3 réplicats).

Les échantillons du panel sont décrits dans le tableau 32a (échantillons du panel avec résultats positifs prévus) et le tableau 32 (échantillons du panel avec résultats négatifs prévus), accompagnés d'un résumé de la concordance avec les résultats prévus et les valeurs de S/CO d'analyte au 2,5e, 50e et 97,5e percentiles de la distribution du S/CO. La variabilité du S/CO d'analyte pour les échantillons du panel avec des résultats positifs prévus est indiquée dans le tableau 33 pour l'étude 1 et dans le tableau 34 pour l'étude 2.

La concordance positive pour les échantillons du panel positif au HPV avec des concentrations égales ou supérieures au seuil de détection du test variait de 95,1 % à 100 % dans l'étude 1 et de 93,2 % à 100 % dans l'étude 2 pour 9 des 10 échantillons du panel. L'échantillon restant du panel positif au HPV a atteint 77,2 % de concordance dans l'étude 1 et 79,0 % de concordance dans l'étude 2, résultat plus faible que prévu mais cohérent entre les 2 études. La concordance négative pour les échantillons du panel hautement négatif au HPV avec des concentrations inférieures au seuil de détection du test variait entre 78,8 % et 93,8 % dans l'étude 1 et 82,1 % et 95,7 % dans l'étude 2. La concordance avec les résultats prévus pour les échantillons du panel négatif au HPV variait entre 96,9 % et 100 % dans l'étude 1 et 96,3 % et 100 % dans l'étude 2.

Tableau 32a : Études 1 et 2 de reproductibilité du Aptima HPV assay : description du panel, concordance positive et distribution des percentiles des valeurs du S/CO d'analyte pour les échantillons du panel avec résultats positifs prévus

Description du panel (copies ou cellules/réaction)	Étude 1 (3 sites de test)	Étude 2 (1 site de test)
	% de concordance positive (IC à 95 %)	% de concordance positive (IC à 95 %)
IVT HPV 16 et HPV 18 (100 copies)	100 (161/161) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellules SiHa (3 cellules) et cellules HeLa (7,5 cellules)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT de HPV 18 (100 copies)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (160/160) (97,7, 100)
IVT de HPV 16 (100 copies)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellules MS751 (1 cellule)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	96,9 (157/162) (93,0, 98,7)
Cellules ME180 (0,3 cellule)	95,1 (154/162) (90,6, 97,5)	93,2 (151/162) (88,3, 96,2)
IVT de HPV 18 (30 copies)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT de HPV 16 (30 copies)	100 (162/162) (97,7, 100)	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)
Cellules HeLa (2,5 cellule)	100 (162/162) (97,7, 100)	95,6 (152/159) (91,2, 97,9)
Cellules SiHa (1 cellule)*	77,2 (125/162) (70,1, 83,0)	79,0 (128/162) (72,1, 84,6)

IVT = transcrit *in vitro*. Le transcrit *in vitro* a été ajouté au STM et les cellules ont été ajoutées à la solution PreservCyt.

*Concordance positive prévue en % ~ 95 % ; valeur observée inférieure en raison, possiblement, de la variabilité de la fabrication de l'échantillon du panel.

Tableau 32b : Études 1 et 2 de reproductibilité du Aptima HPV assay : description du panel, concordance négative et distribution des percentiles des valeurs du S/CO d'analyte pour les échantillons du panel avec résultats négatifs prévus

Description du panel (copies ou cellules/réaction)	Étude 1 (3 sites de test)	Étude 2 (1 site de test)
	% de concordance négative (IC à 95 %)	% de concordance négative (IC à 95 %)
IVT de HPV 18 (1 copie)*	78,8 (126/160) (71,8, 84,4)	83,3 (135/162) (76,8, 88,3)
IVT de HPV 16 (1 copie)*	80,9 (131/162) (74,1, 86,2)	88,3 (143/162) (82,4, 92,4)
Cellules HeLa (0,05 cellule)*	79,0 (128/162) (72,1, 84,6)	82,1 (133/162) (75,5, 87,2)
Cellules SiHa (0,03 cellule)*	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)
STM Lot 1	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
STM Lot 2	99,4 (160/161) (96,6, 99,9)	100 (162/162) (97,7, 100)
STM Lot 3	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Groupe 1 ThinPrep	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)
Groupe 2 ThinPrep	96,9 (157/162) (93,0, 98,7)	96,3 (156/162) (92,2, 98,3)
Groupe 3 ThinPrep	100 (162/162) (97,7, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)

STM = milieu pour transport d'échantillon ; IVT = transcrit *in vitro*. Le transcrit *in vitro* a été ajouté au STM et les cellules ont été ajoutées à la solution PreservCyt.

* Concordance négative prévue en % > 75 % et < 100 %.

Tableau 33 : Étude 1 de reproductibilité du Aptima HPV assay : variabilité du signal pour les échantillons du panel avec résultats positifs prévus

Description du panel (copies ou cellules/réaction)	n	S/CO moyen	Entre les centres		Entre les opérateurs		Entre les lots		Entre les listes de travail		Au sein des listes de travail		Total	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
IVT de HPV 16 et HPV 18 (100 copies)	161 [^]	23,4	0,1	0,4	0,1	0,4	0,9	4,0	0	0	1,6	7,0	1,9	8,1
Cellules SiHa (3 cellules) et cellules HeLa (7,5 cellules)	162	17,9	0	0	1,4	8,1	0	0	0,6	3,1	5,1	28,6	5,3	29,9
IVT de HPV 18 (100 copies)	162	11,8	0	0	0	0	0,8	6,4	0,1	0,9	1,2	10,1	1,4	12,0
IVT de HPV 16 (100 copies)	162	10,8	0,2	1,5	0	0	0,1	1,1	0,3	2,6	0,3	3,1	0,5	4,5
Cellules MS751 (1 cellule)	162	13,3	0,3	2,1	0	0	1,0	7,8	0,9	7,1	2,2	16,2	2,6	19,4
Cellules ME180 (0,3 cellule)	162	6,5	0,2	3,2	0	0	0,6	8,6	0,4	5,5	2,4	36,2	2,5	37,7
IVT de HPV 18 (30 copies)	162	9,0	0,7	7,3	0	0	0,7	7,2	0,8	8,3	2,3	25,3	2,6	28,5
IVT de HPV 16 (30 copies)	162	10,8	0,1	0,8	0	0	0,1	1,3	0,4	3,8	0,9	8,4	1,0	9,3
Cellules HeLa (2,5 cellule)	162	12,4	0	0	0,4	3,3	0,4	3,1	0	0	2,3	18,4	2,4	19,0
Cellules SiHa (1 cellule)	162	7,5	0,3	3,7	1,0	13,0	0	0	0	0	4,8	63,6	4,9	65,0

SD = écart type ; CV = coefficient de variation ; IVT = transcrit *in vitro* ; S/CO = signal divisé par le seuil

[^]Un échantillon a eu un résultat non valide avec le Aptima HPV assay et n'a pas été inclus dans les analyses.

Remarque : La variabilité due à certains facteurs peut être négative numériquement. Cela peut arriver si la variabilité due à ces facteurs est très réduite. Dans ces cas, le SD et le CV sont indiqués comme 0.

Tableau 34 : Étude 2 de reproductibilité du Aptima HPV assay : variabilité du signal pour les échantillons du panel avec résultats positifs prévus

Description du panel (copies ou cellules/réaction)	n	S/CO moyen	Entre appareils		Entre les opérateurs		Entre les lots		Entre les listes de travail		Au sein des listes de travail		Total	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
IVT de HPV 16 et HPV 18 (100 copies)	162	23,2	0,4	1,5	0,6	2,3	0,8	3,4	0,8	3,4	1,5	6,3	2,0	8,4
Cellules SiHa (3 cellules) et cellules HeLa (7,5 cellules)	162	18,6	0	0	1,7	9,3	0	0	3,5	18,6	3,7	20,0	5,4	28,9
IVT de HPV 18 (100 copies)	160 [^]	11,9	0,1	0,6	0,2	1,6	0,8	7,0	0,4	3,6	1,3	11,3	1,7	13,8
IVT de HPV 16 (100 copies)	162	10,8	0	0	0,1	1,3	0	0	0,2	2,2	0,7	6,1	0,7	6,6
Cellules MS751 (1 cellule)	162	13,6	0	0	0,6	4,3	0	0	2,5	18,4	2,1	15,2	3,3	24,2
Cellules ME180 (0,3 cellule)	162	5,8	0	0	0,6	10,8	0,5	9,4	2,2	36,9	1,7	29,7	2,9	49,5
IVT de HPV 18 (30 copies)	162	8,8	0,4	4,4	0,5	6,0	0,7	7,9	1,0	11,5	1,9	21,4	2,4	26,6
IVT de HPV 16 (30 copies)	162	10,5	0	0	0,1	1,3	0,2	2,0	1,6	14,9	1,2	11,2	2,0	18,8
Cellules HeLa (2,5 cellule)	159 [^]	12,0	0,6	5,1	1,0	8,5	0	0	2,8	23,8	2,0	16,6	3,7	30,6
Cellules SiHa (1 cellule)	162	7,4	0,9	12,5	0	0	0,7	9,3	1,8	24	4,2	56,8	4,7	63,8

SD = écart type ; CV = coefficient de variation ; IVT = transcrit *in vitro* ; S/CO = signal divisé par le seuil

[^]Cinq échantillons finaux ont présenté des résultats non valides avec le Aptima HPV assay (2 pour les IVT du HPV 18 (100 copies), 3 pour les cellules HeLa (2,5 cellules)) et n'ont pas été inclus dans les analyses.

Remarque : La variabilité due à certains facteurs peut être négative numériquement. Cela peut arriver si la variabilité due à ces facteurs est très réduite. Dans ces cas, le SD et le CV sont indiqués comme 0.

Une troisième étude a également été menée pour déterminer la reproductibilité du test en analysant un panel de 6 échantillons, composé d'un groupe d'échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep. Six groupes uniques d'échantillons cytologiques résiduels en milieu liquide ThinPrep négatifs au HPV ont été préparés en tant que matrice, dont deux ont été testés en tant qu'échantillons du panel négatifs au HPV. Quatre groupes uniques d'échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep positifs au HPV ont été utilisés pour préparer les échantillons du panel faiblement positifs (n = 2) et fortement positifs (n = 2) au HPV. Les échantillons du panel faiblement positifs présentaient des concentrations égales au seuil de détection du test (positivité prévue : $\geq 95\%$ déterminée pour chaque groupe individuel positif au HPV à partir de tests menés sur les dilutions en série des groupes). Les échantillons du panel fortement positifs présentaient des concentrations supérieures de 1 à 2 logs par rapport au seuil de détection estimé de chaque groupe individuel positif au HPV (positivité prévue : 100 % de positivité). Chaque échantillon du panel a été transféré (1 ml) dans un tube de transfert d'échantillons Aptima contenant du STM le jour du test. Le test a été mené en interne par 2 opérateurs à l'aide d'1 lot de réactifs, 3 appareils, pendant 6 jours (3 jours par opérateur), en analysant 2 séries par jour, dans lesquelles le panel a été testé en double.

Les échantillons du panel sont décrits dans le tableau 35 accompagnés d'un résumé de la concordance avec les résultats et les valeurs du S/CO d'analyte prévus au 2,5e, 50e et 97,5e percentiles de la distribution du signal. La variabilité du S/CO d'analyte pour les échantillons du panel avec des résultats positifs prévus est indiquée dans le tableau 36.

La concordance était de 100 % pour les échantillons du panel fortement positifs au HPV, $\geq 98,6$ % pour les échantillons du panel faiblement positifs au HPV et $\geq 94,4$ % pour les échantillons du panel négatifs au HPV.

Tableau 35 : Étude 3 de reproductibilité du Aptima HPV assay : description du panel, pourcentage de concordance

Description du panel	% de concordance (IC à 95 %)
Faiblement positif 1	98,6 (71/72) (92,5, 99,8)
Faiblement positif 2	100 (72/72) (94,9, 100)
Fortement positif 1	100 (72/72) (94,9, 100)
Fortement positif 2	100 (72/72) (94,9, 100)
Négatif 1	98,6 (71/72) (92,5, 99,8)
Négatif 2	94,4 (68/72) (86,6, 97,8)

Tableau 36 : Étude 3 de reproductibilité du Aptima HPV assay : analyse du signal pour les échantillons du panel avec résultats positifs prévus

Description du panel	n	S/CO moyen	Entre appareils		Entre les opérateurs		Entre les lots		Entre les listes de travail		Au sein des listes de travail		Total	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Faiblement positif 1	72	9,8	0	0	0	0	0	0	2,2	22,8	3,0	30,4	3,7	38,0
Faiblement positif 2	72	10,5	0	0	2,2	21,0	0,9	9,0	3,7	35,3	2,7	26,1	5,2	49,5
Fortement positif 1	72	22,7	1,3	5,6	0	0	0,1	0,5	3,0	13,3	3,7	16,4	5,0	21,9
Fortement positif 2	72	23,9	0	0	0	0	0	0	2,9	12,3	3,0	12,4	4,2	17,4

SD = écart type ; CV = coefficient de variation ; S/CO = signal divisé par le seuil

Remarque : La variabilité due à certains facteurs peut être négative numériquement. Cela peut arriver si la variabilité due à ces facteurs est très réduite. Dans ces cas, le SD et le CV sont indiqués comme 0.

Réactivité croisée

La spécificité analytique du Aptima HPV assay a été évaluée avec le milieu PreservCyt dilué à 1:2,9 dans le STM, auquel ont été ajoutées des cultures de bactéries, de levures ou de champignons microscopiques, ainsi que des cultures de virus ou des transcrits *in vitro* de HPV à faible risque. Les organismes et les concentrations testées sont identifiés dans le tableau 37. Les critères de l'étude pour évaluer l'effet de la présence de microorganismes sur la spécificité du test se sont appuyés sur le taux de positivité. Une réactivité croisée a été observée avec les génotypes du HPV à faible risque 26, 67, 70 et 82 ; en revanche aucune réactivité croisée n'a été observée avec les autres organismes testés.

Tableau 37 : Panel de spécificité analytique : Organismes et concentration ne présentant pas de réactivité croisée

Organisme	Concentration testée ne présentant pas de réactivité croisée	Organisme	Concentration testée ne présentant pas de réactivité croisée
Bactéries			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Micrococcus luteus</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	2x10 ⁷ UFC/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	5x10 ⁷ UFC/ml	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Bacillus cereus</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Mycoplasma fermentans</i>	5x10 ⁷ UFC/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	5x10 ⁷ UFC/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Bifidobacterium breve</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> et <i>Chlamydia trachomatis</i>	2,5x10 ⁷ UFC/ml 2,3x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml
<i>Campylobacter fetus-fetus</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Neisseria meningitidis</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	3,2x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Peptoniphilus lacrimalis</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Clostridium difficile</i>	6x10 ⁷ UFC/ml	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Clostridium perfringens</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Proteus mirabilis</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Providencia stuartii</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia coli</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Ruminococcus productus</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Fingoldia magna</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Serratia marcescens</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> sous-espèce <i>bulgaricus</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1x10 ⁸ UFC/ml
<i>Lactobacillus jensenii</i>	1x10 ⁸ UFC/ml		

Tableau 37 : Panel de spécificité analytique : Organismes et concentration ne présentant pas de réactivité croisée (*suite*)

Organisme	Concentration testée ne présentant pas de réactivité croisée	Organisme	Concentration testée ne présentant pas de réactivité croisée
Levures/protozoaires			
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁸ UFC/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1x10 ⁷ cellules/ml
Virus			
Adénovirus 2	1x10 ⁷ pv/ml	Virus de l'herpès simplex 1	2,5x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml
Cytomégalovirus	5,6x10 ² TCID ₅₀ /ml	Virus de l'herpès simplex 2	5x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
Virus Epstein-Barr	4,3x10 ⁶ pv/ml	SV40	1,2 x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
HIV-1	1,0x10 ⁶ copies/ml		
Génotypes du HPV non ciblés			
HPV 6	2,5x10 ⁶ copies/ml	HPV 61	2,5x10 ⁶ copies/ml
HPV 11	2,5x10 ⁶ copies/ml	HPV 67	1 copie/ml
HPV 26	2,5 copies/ml	HPV 69	2,5x10 ⁶ copies/ml
HPV 30	2,5x10 ⁶ copies/ml	HPV 70	1 copie/ml
HPV 34	2,5x10 ⁶ copies/ml	HPV 71	2,5x10 ⁶ copies/ml
HPV 42	2,5x10 ⁶ copies/ml	HPV 73	2,5x10 ⁶ copies/ml
HPV 43	2,5x10 ⁶ copies/ml	HPV 81	2,5x10 ⁶ copies/ml
HPV 44	2,5x10 ⁶ copies/ml	HPV 82	1 copie/ml
HPV 53	2,5x10 ⁶ copies/ml	HPV 85	2,5x10 ⁶ copies/ml
HPV 54	2,5x10 ⁶ copies/ml		

pv = particules virales

UFC = unité formant colonie

TCID₅₀ = dose infectant 50 % des cultures tissulaires

Remarque : Les caractères en gras indiquent les génotypes du HPV pour lesquels une réactivité croisée (> 5 % de positivité) a été observée lors de tests avec des concentrations plus élevées que celles inscrites dans le tableau.

La sensibilité analytique du Aptima HPV assay en présence de microorganismes a été évaluée avec le même panel que celui décrit dans le tableau 37, auquel a également été ajouté une faible concentration de cellules SiHa infectées par HPV (1 cellule par réaction). Les critères de l'étude pour évaluer l'effet de la présence de microorganismes sur la sensibilité du test se sont appuyés sur le taux de positivité. Aucun des autres organismes testés n'a affecté la sensibilité du Aptima HPV assay.

Interférence

Les substances décrites dans le tableau 38 ont été individuellement ajoutées à la solution PreservCyt à 1 % et à 10 % v/v ou p/v, diluées avec du STM puis testées avec le Aptima HPV assay. Toutes les substances ont été testées en la présence ou l'absence de cellules de culture infectées par HPV (SiHa, 3 cellules/réaction). Des interférences ont été observées avec deux des sept lubrifiants contenant du Polyquaternium 15 et l'un des cinq médicaments antifongique contenant du tioconazole. Il n'a été relevé aucune interférence avec les autres substances testées.

Tableau 38 : Substances testées pour évaluer d'éventuelles interférences avec le Aptima HPV assay

Catégorie de produit	Type ou marque de produit	Concentration maximale* ayant été testée sans interférer avec la performance du test
Lubrifiant	KY Sensual Mist	10 % v/v
	Gelée chauffante KY	10 % p/v
	Liquide chauffant KY	10 % v/v
	Lubrifiant personnel de marque CVS	10 % p/v
	Lotion chauffante pour massage et lubrifiant personnel de marque Target	10 % v/v
	Lubrifiant personnel Astroglide	0,3 % p/v (échantillon de test à 0,075 % p/v)
	Liquide lubrifiant de marque ciblée	0,1 % v/v (échantillon de test à 0,025 % v/v)
Spermicide	Formule originale contraceptive vaginale Gynol II	10 % p/v
	Formule extra puissante contraceptive vaginale Gynol II	10 % p/v
	Mousse contraceptive vaginale Delfen	10 % p/v
	Contraceptif vaginal Encare	10 % p/v
	Contraceptif vaginal Conceptrol	10 % p/v
Médicament antifongique/ antiprurigineux	Vagisil puissance maximale	10 % p/v
	Calmant Monistat	10 % p/v
	Pack combiné Monistat 3	10 % p/v
	Tioconazole 1 de marque Target	0,3 % p/v (échantillon de test à 0,075 % p/v)
	Miconazole 3 de marque Target	10 % p/v
Acide acétique glacial	EMD M/N AX0073-11	10 % v/v
Sang total	sang total	10 % v/v

*Lubrifiants personnels contenant du Polyquaternium 15.

Résultats escomptés avec le Panther Système : prévalence des mRNA (Messenger RNA) des HPV haut risque

La prévalence d'une infection par HPV à haut risque varie considérablement et est influencée par plusieurs facteurs, dont le plus important est l'âge.^{32,33} De nombreuses études ont analysé la prévalence du HPV telle que déterminée par la détection du DNA (Acide désoxyribonucléique) du HPV, néanmoins peu d'études indiquent la prévalence en fonction de la détection du mRNA (Messenger RNA) oncogène du HPV. Des femmes provenant de divers sites cliniques (n = 18), représentant une vaste distribution géographique et une population variée (10 États au sein des États-Unis) ont été incluses dans l'essai CLEAR, une étude clinique prospective.³⁴ Tel que déterminée par le Aptima HPV assay réalisé sur le Panther Système, la prévalence des échantillons positifs pour le mRNA (Messenger RNA) du HPV observée dans l'essai clinique a été classée de manière globale, par groupe d'âge et par site de test. Les résultats sont indiqués dans le tableau 39 pour les populations avec des atypies des cellules malpighiennes de signification indéterminée (atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US) et NILM (négatives aux lésions intra-épithéliales ou malignes).

Tableau 39 : Prévalence des ARNm (ARN Messenger) du HPV à haut risque par groupe d'âge, par site de test et tous facteurs combinés

	Taux de positivité en % (x/n)	
	Population ASC-US (≥ 21 ans)	Population NILM (≥ 30 ans)
Tous	42,3 (404/956)	4,7 (512/10 860)
Groupe d'âge (en années)		
21 à 29	60,0 (251/418)	S.O.
30 à 39	38,1 (101/265)	6,8 (286/4192)
≥ 40	19,0 (52/273)	3,4 (226/6668)
Site de test		
1	41,5 (134/323)	3,7 (304/8286)
2	43,1 (137/318)	9,2 (118/1285)
3	42,2 (133/315)	7,0 (90/1289)

S.O. = sans objet

Conception de l'étude clinique portant sur le Aptima HPV Assay avec les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep

Le Aptima HPV assay sur le Panther System a été évalué à l'aide d'échantillons cytologiques résiduels d'orientation, prélevés sur des femmes consentantes, pendant l'étude clinique américaine prospective et multicentrique, connue sous le nom d'essai CLEAR.³⁴

Essai CLEAR - Évaluation initiale

L'essai CLEAR a été mené pour déterminer la performance clinique du Aptima HPV assay sur le Tigris DTS System afin de détecter des néoplasies cervicales intra-épithéliales de grade 2 ou des pathologies cervicales plus graves (\geq CIN2). L'essai CLEAR comprenait une évaluation initiale et une évaluation de suivi sur 3 ans. Les femmes ont été inscrites à l'étude ASC-US ou à l'étude NILM d'après les résultats cytologiques obtenus dans le cadre de dépistages de routine du cancer du col de l'utérus. La population de l'étude ASC-US comprenait des femmes de 21 ans et plus, présentant des résultats cytologiques d'ASC-US, et la population de l'étude NILM incluait des femmes de 30 ans ou plus, présentant des résultats cytologiques de NILM. L'étude NILM a été conçue pour appuyer la revendication de dépistage supplémentaire pour les femmes âgées de 30 ans et plus, car les femmes dans ce groupe d'âge avec des résultats cytologiques plus graves qu'un résultat d'ASC-US doivent subir une colposcopie indépendamment de leur état HPV.³⁵

Des femmes provenant de 18 sites cliniques, principalement des cliniques d'obstétrique/gynécologie, reflétant une vaste distribution géographique et une population variée, ont été inscrites. Les femmes éligibles ont été affectées à l'étude ASC-US ou à l'étude NILM en fonction de leur échantillon cytologique en milieu liquide ThinPrep initial. Lors de l'évaluation initiale, les échantillons résiduels d'orientation, provenant de femmes dans les études ASC-US et NILM, ont d'abord été testés avec le Aptima HPV assay sur le Tigris DTS System et avec un test HPV ADN disponible dans le commerce. Les échantillons ont ensuite été archivés et conservés à -70 °C jusqu'à ce qu'ils soient testés avec le Aptima HPV assay sur le Panther Système.

Lors de l'évaluation initiale de l'essai CLEAR (phase initiale), toutes les femmes de l'étude ASC-US ont été orientées vers une colposcopie, indépendamment des résultats de leur test HPV. Une biopsie par curetage endocervical (CEC) et des biopsies cervicales à l'emporte-pièce (1 biopsie de chacun des 4 quadrants) ont été effectuées. Une biopsie à l'emporte-pièce a été menée (méthode dirigée ; 1 biopsie par lésion) à chaque fois qu'une lésion était visible et les quadrants exempts de lésion visible ont été biopsiés à la jonction pavimento-cylindrique (méthode aléatoire).

Dans l'étude NILM, les femmes dont les résultats étaient positifs avec le Aptima HPV assay sur le Tigris DTS System et/ou avec le test HPV ADN disponible dans le commerce, ainsi que les femmes sélectionnées aléatoirement et dont les résultats étaient négatifs avec les deux tests, ont été orientées vers une colposcopie pour l'évaluation initiale. Les femmes sélectionnées aléatoirement dont les résultats étaient négatifs pour les deux tests étaient incluses pour effectuer une correction pour le biais de vérification avec des estimations des performances corrigées au moyen de plusieurs méthodes d'imputation. Une biopsie par CEC a été réalisée chez chacune des femmes ayant subi la colposcopie. Des biopsies à l'emporte-pièce ont été obtenues uniquement sur les lésions visibles (méthode dirigée ; 1 biopsie par lésion).

L'état pathologique a été déterminé à partir d'un panel d'examen histologique consensuel, fondé sur l'accord d'au moins 2 pathologistes experts. Le statut cytologique et HPV des

femmes était inconnu des pathologistes experts. Aucun ne connaissait le statut cytologique ou les diagnostics histologiques réalisés par l'autre. Si les 3 pathologistes étaient en désaccord, ils devaient tous les trois examiner les lames sous un microscope à plusieurs têtes pour parvenir à un consensus. Les chercheurs, les cliniciens et les femmes n'ont pas eu connaissance des résultats du test HPV jusqu'à la réalisation de la colposcopie, afin d'éviter les biais.

Lors de l'évaluation initiale, la performance clinique du Aptima HPV assay pour la détection des \geq CIN2 et des néoplasies cervicales intra-épithéliales de grade 3 ou pour des maladies cervicales plus graves (\geq CIN3) a été évaluée par rapport au statut de la maladie cervicale. La performance clinique du test HPV ADN disponible dans le commerce a également été déterminée en vue d'une comparaison directe avec les résultats du Aptima HPV assay.

Essai CLEAR - Évaluation de suivi

Les femmes dans l'étude NILM menée dans 14 sites cliniques pouvaient participer à la phase de suivi sur 3 ans de l'étude si : i) elles avaient une visite colposcopique lors de l'évaluation initiale et si elles ne présentaient pas de lésions \geq CIN2, ou ii) si elles n'avaient pas de visite colposcopique lors de l'évaluation initiale. La phase de suivi de l'étude comprenait des visites annuelles. Lors de ces visites, chaque femme était soumise à un prélèvement cervical pour un examen cytologique. Certaines femmes étaient testées avec un test HPV disponible dans le commerce. Les femmes révélant des résultats cytologiques ASC-US ou plus graves pendant la période de suivi étaient orientées vers une colposcopie en suivant les mêmes procédures de biopsie et d'examen histologique que celle de l'évaluation initiale dans le cadre de l'étude NILM. Lors d'une visite de suivi, le statut de la maladie cervicale était jugé négatif en fonction de la cytologie NILM, ou pour les femmes aux résultats de tests cytologiques anormaux, en fonction des résultats normaux ou du panel d'examen histologique consensuel CIN1. On considérait les femmes avec des lésions \geq CIN2 détectées pendant la période de suivi comme ayant terminé le suivi et n'avaient pas de visites après la détection de lésions \geq CIN2. On considérait que les femmes sans lésions \geq CIN2 détectées pendant la période de suivi mais participant à une visite d'étude au cours de l'année 1 de suivi et/ou l'année 2 de suivi et participant à une visite d'étude au cours de l'année 3 de suivi avaient terminé le suivi.

L'objectif de l'étude de suivi consistait à comparer le risque cumulé sur 3 ans des maladies cervicales chez les femmes avec des résultats d'Aptima HPV assay positifs initiaux par rapport au risque cumulé sur 3 ans des maladies cervicales chez les femmes avec des résultats d'Aptima HPV assay négatifs. Le statut de la maladie cervicale sur 3 ans était déterminé comme suit :

- Statut positif de la maladie cervicale (\geq CIN2 et/ou \geq CIN3) – Femmes avec des lésions \geq CIN2 détectées lors de l'évaluation initiale ou lors du suivi.
- Statut négatif de la maladie cervicale ($<$ CIN2) – Femmes ayant terminé un suivi sans lésions \geq CIN2 détectées et qui n'avaient pas de statut indéterminé de la maladie cervicale.
- Statut indéterminé de la maladie cervicale – Femmes avec des résultats de tests cytologiques anormaux pendant le suivi et n'ayant donc pas de résultat du panel d'examen histologique consensuel, ou femmes avec une cytologie inappropriée lors de leur dernière visite.
- Pertes en cours de suivi – Femmes qui n'avaient pas terminé le suivi et qui n'avaient pas de statut indéterminé de la maladie cervicale.

Les performances cliniques du Aptima HPV assay sur le Panther System pour détecter \geq CIN2 et \geq CIN3 étaient évaluées par rapport au statut de la maladie cervicale sur 3 ans.

Performance du test sur Panther System

Population ASC-US ≥ 21 ans : performance clinique du Aptima HPV assay

Au total, 1252 femmes âgées de 21 ans ou plus, avec des résultats cytologiques d'ASC-US ont été incluses dans l'étude ASC-US ; parmi celles-ci, 294 ont été retirées de l'étude. Les 958 femmes restantes étaient éligibles pour être testées avec le Panther Système. Les échantillons de deux femmes ont été perdus et 19 présentaient un diagnostic pathologique indéterminé ; elles ont toutes été exclues de l'analyse. Les 937 femmes évaluables restantes avaient 21 ans et plus et des résultats cytologiques d'ASC-US ainsi que des résultats avec le Aptima HPV assay sur le Panther Système et un statut pathologique concluant. Quatre-vingt-onze (91) femmes présentaient des lésions ≥ CIN2 et quarante-et-une (41) des lésions ≥ CIN3. La prévalence des lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3 chez les femmes évaluables avec un résultat cytologique d'ASC-US s'élevait respectivement à 9,7 % et 4,4 %. Les résultats du Aptima HPV assay par rapport aux diagnostics du panel d'examen histologique consensuel sont indiqués dans le tableau 40.

Tableau 40 : Population ASC-US ≥ 21 ans : résultats du Aptima HPV assay par rapport au diagnostic du panel d'examen histologique consensuel

Résultat du Aptima HPV Assay*	Test HPV ADN	Diagnostic du panel d'examen histologique consensuel						
		Indéterminé**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	Total
Positif	Positif	6	178	110	40	32	1	367
Positif	Négatif	0	5	2	0	2	0	9
Positif	Aucun résultat***	0	15	11	0	2	0	28
Négatif	Positif	0	39	15	3	3	0	60
Négatif	Négatif	10	372	53	7	1	0	443
Négatif	Aucun résultat***	3	39	7	0	0	0	49
Total		19	648	198	50	40	1****	956

*Tous les échantillons disposaient de résultats finaux valides (lors du test initial ou après résolution des résultats initiaux non valides par la procédure).

**19 sujets se sont rendus à la consultation de colposcopie mais le diagnostic n'a pas pu être déterminé pour les raisons suivantes : < 5 échantillons de biopsie ont tous révélé des résultats histologiques normaux/CIN1 (n = 15), aucune biopsie n'a été prélevée (n = 3) et les lames de biopsie ont été perdues (n = 1).

***77 femmes disposant de résultats avec le Aptima HPV assay n'avaient pas de résultat de test DNA HPV, principalement en raison d'un volume insuffisant de l'échantillon cytologique.

****Un sujet présentait un adénocarcinome in situ (AIS).

Les estimations de performance clinique du Aptima HPV assay, notamment la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive (VPP) et la valeur prédictive négative (VPN), dans la détection des lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3 d'après l'évaluation de toutes les biopsies et incluant les biopsies dirigées uniquement, sont indiquées dans le tableau 41 ainsi que les estimations pour le test HPV ADN disponible dans le commerce.

Tableau 41 : Population ASC-US ≥ 21 ans : performances du Aptima HPV assay et d'un test HPV ADN pour la détection des lésions ≥CIN2 et ≥CIN3

	Performances	Aptima HPV Assay N = 937		Test HPV ADN N = 863*	
		Estimation	(IC à 95 %)	Estimation	(IC à 95 %)
≥ CIN2	Toutes les biopsies				
	Sensibilité (%)	84,6 (77/91)	(75,8, 90,6)	88,8 (79/89)	(80,5, 93,8)
	Spécificité (%)	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)
	Prévalence (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)	
	Biopsies dirigées**				
	Sensibilité (%)	90,0 (54/60)	(79,9, 95,3)	93,2 (55/59)	(83,8, 97,3)
	Spécificité (%)	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)
	Prévalence (%)	6,4 (60/934)		6,9 (59/861)	
≥ CIN3	Toutes les biopsies				
	Sensibilité (%)	90,2 (37/41)	(77,5, 96,1)	92,3 (36/39)	(79,7, 97,3)
	Spécificité (%)	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)
	Prévalence (%)	4,4 (41/937)		4,5 (39/863)	
	Biopsies dirigées**				
	Sensibilité (%)	93,1 (27/29)	(78,0, 98,1)	96,4 (27/28)	(82,3, 99,4)
	Spécificité (%)	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)
	Prévalence (%)	3,1 (29/935)		3,2 (28/862)	

*74 femmes avec des résultats issus du Aptima HPV assay n'avaient pas de résultat de test HPV ADN, en raison principalement du volume insuffisant de l'échantillon cytologique.

**Le résultat histologique consensuel est issu uniquement des résultats de biopsies dirigées. Les femmes sans biopsies dirigées correspondent à celles avec une coloscopie normale et sont incluses dans ces analyses en tant que sujets sains (< CIN2 ou < CIN3 selon les cas). Un consensus n'a pas toujours été obtenu lorsque seules les biopsies dirigées étaient incluses.

Lors de l'évaluation de toutes les biopsies, les estimations de la sensibilité clinique du Aptima HPV assay et du test DNA HPV disponible dans le commerce dans la détection des lésions \geq CIN2 et \geq CIN3, quand les deux résultats étaient disponibles, étaient similaires (les différences des estimations de sensibilité n'étaient pas statistiquement significatives). Pour les lésions \geq CIN2 la différence de sensibilité était de -4,5 % (IC à 95 % : -12,2 % ; 2,5 %). Les estimations de spécificité clinique du Aptima HPV assay dans la détection des lésions \geq CIN2 et \geq CIN3 étaient supérieures à celles du test HPV ADN disponible dans le commerce (les différences des estimations de spécificité étaient statistiquement significatives). Pour les lésions \geq CIN2 la différence de spécificité était de 6,1 % (IC à 95 % : 4,2 % ; 8,2 %). Les VPN étaient similaires mais pour la détection des lésions \geq CIN2, la VPP pour le Aptima HPV assay était légèrement supérieur à celui du test HPV ADN disponible dans le commerce (19,3 % contre 18,8 %).

Parmi les 91 cas de lésions \geq CIN2, 60 (65,9 %) ont été identifiés dans le cadre de biopsies dirigées et 31 (34,1%) ont été identifiés à partir de biopsies aléatoires et/ou par CEC (c.-à-d. par biopsie non dirigée). Ces constatations sont comparables aux résultats des études publiées, dans lesquels environ 25 % à 40 % des cas de lésions \geq CIN2 ont été identifiés uniquement à partir d'échantillons de biopsie aléatoires et/ou par CEC.^{36,37} En utilisant uniquement les biopsies dirigées pour déterminer le statut pathologique (en présumant que les femmes sans biopsie dirigée avaient des résultats histologiques normaux car aucune lésion visible n'était présente), la prévalence des lésions \geq CIN2 et \geq CIN3 dans l'étude était respectivement de 6,4 % et 3,1 %. Les estimations de sensibilité clinique dans la détection des lésions \geq CIN2 et \geq CIN3 étaient plus élevées pour les deux tests en utilisant uniquement les biopsies dirigées par rapport aux estimations calculées en utilisant toutes les biopsies. Pour les deux tests, la spécificité clinique utilisant uniquement les biopsies dirigées était similaire à la spécificité obtenue en incluant toutes les biopsies. Par conséquent, lorsque seules les biopsies dirigées sont utilisées, la spécificité du Aptima HPV assay est significativement supérieure à celle du test HPV ADN disponible dans le commerce.

Les estimations de performance clinique du Aptima HPV assay et du test HPV ADN disponible dans le commerce sont indiquées par groupe d'âge dans le tableau 42 et le tableau 43 (lésions \geq CIN2 et \geq CIN3 respectivement, basé sur l'évaluation de toutes les biopsies).

Tableau 42 : Population ASC-US ≥ 21 ans : performances de l'Aptima HPV assay et d'un test DNA HPV pour la détection des lésions ≥CIN2 par groupe d'âge

	Performances	Aptima HPV Assay N = 937		Test HPV ADN N = 863*	
		Estimation	(IC à 95 %)	Estimation	(IC à 95 %)
21 à 29 ans		N = 415		N = 389	
	Sensibilité (%)	88,5 (54/61)	(78,2, 94,3)	94,9 (56/59)	(86,1, 98,3)
	Spécificité (%)	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)
	Prévalence (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
30 à 39 ans		N = 261		N = 238	
	Sensibilité (%)	85,0 (17/20)	(64,0, 94,8)	80,0 (16/20)	(58,4, 91,9)
	Spécificité (%)	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)
	Prévalence (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
≥ 40 ans		N = 261		N = 236	
	Sensibilité (%)	60,0 (6/10)	(31,3, 83,2)	70,0 (7/10)	(39,7, 89,2)
	Spécificité (%)	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)
	Prévalence (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	

*74 femmes avec des résultats issus du Aptima HPV assay n'avaient pas de résultat de test DNA HPV, en raison principalement du volume insuffisant de l'échantillon cytologique.

Tableau 43 : Population ASC-US ≥ 21 ans : performances du Aptima HPV assay et d'un test HPV ADN pour la détection des lésions ≥CIN3 par groupe d'âge

	Performances	Aptima HPV Assay N = 937		Test HPV ADN N = 863*	
		Estimation	(IC à 95 %)	Estimation	(IC à 95 %)
21 à 29 ans		N = 415		N = 389	
	Sensibilité (%)	96,3 (26/27)	(81,7, 99,3)	100 (25/25)	(86,7, 100)
	Spécificité (%)	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)
	Prévalence (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
30 à 39 ans		N = 261		N = 238	
	Sensibilité (%)	88,9 (8/9)	(56,5, 98,0)	77,8 (7/9)	(45,3, 93,7)
	Spécificité (%)	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)
	Prévalence (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
≥ 40 ans		N = 261		N = 236	
	Sensibilité (%)	60,0 (3/5)	(23,1, 88,2)	80,0 (4/5)	(37,6, 96,4)
	Spécificité (%)	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)
	Prévalence (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

*74 femmes avec des résultats issus du Aptima HPV assay n'avaient pas de résultat de test HPV ADN, en raison principalement du volume insuffisant de l'échantillon cytologique.

Le risque absolu de maladie (lésions \geq CIN2 et \geq CIN3, fondé sur l'évaluation de toutes les biopsies) d'après les résultats du Aptima HPV assay, et le risque relatif de maladie pour les résultats positifs et négatifs du Aptima HPV assay, sont indiqués dans le tableau 44 ainsi que les estimations pour le test DNA HPV disponible dans le commerce. Le risque relatif de lésion \geq CIN2 était de 7,4 (IC à 95 % : 4,3 ; 13,0), indiquant qu'une femme dont le résultat était positif avec le Aptima HPV assay avait 7,4 fois plus de risques d'avoir une lésion \geq CIN2 qu'une femme dont le résultat Aptima HPV assay était négatif. Le risque relatif de lésion \geq CIN3 était de 12,5 (IC à 95 % : 4,5 ; 34,9).

Tableau 44 : Population NILM \geq 30 ans : risques absolu et relatif de lésions \geq CIN2 et \geq CIN3 d'après les résultats de l'Aptima HPV assay et d'un test DNA HPV

	Résultat du test	Aptima HPV Assay N = 937		Test DNA HPV N = 863*	
		Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)	Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)
\geq CIN2	Positif	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)
	Négatif	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)		2,3 (10/442) (1,2, 3,8)	
	Prévalence (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)	
\geq CIN3	Positif	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)
	Négatif	0,7 (4/539) (0,2, 1,7)		0,7 (3/442) (0,2, 1,7)	
	Prévalence (%)	4,4 (41/937)		4,5 (39/863)	

*74 femmes avec des résultats issus du Aptima HPV assay n'avaient pas de résultat de test DNA HPV, en raison principalement du volume insuffisant de l'échantillon cytologique.

Les estimations de risque absolu et relatif de maladie (lésions \geq CIN2 et \geq CIN3, fondées sur l'évaluation de toutes les biopsies), d'après le Aptima HPV assay et le test HPV ADN disponible dans le commerce, sont indiquées par groupe d'âge dans le tableau 45.

Tableau 45 : Population NILM \geq 30 ans : risques absolu et relatif de lésions \geq CIN2 et \geq CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV assay et d'un test HPV ADN par groupe d'âge

	Âge	Résultat du test	Aptima HPV Assay N = 937		Test HPV ADN N = 863*	
			Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)	Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)
\geq CIN2	21 à 29 ans		N = 415		N = 389	
		Positif	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)
		Négatif	4,2 (7/166) (1,9, 7,7)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Prévalence (%)	9,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	30 à 39 ans		N = 261		N = 238	
		Positif	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)
		Négatif	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Prévalence (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
	\geq 40 ans		N = 261		N = 236	
		Positif	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)
		Négatif	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)		1,6 (3/183) (0,4, 3,4)	
		Prévalence (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	
\geq CIN3	21 à 29 ans		N = 415		N = 389	
		Positif	10,4 (26/249) (9,0, 11,5)	17,3 (2,4, 127)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Non calculable
		Négatif	0,6 (1/166) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Prévalence (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	30 à 39 ans		N = 261		N = 238	
		Positif	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)
		Négatif	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Prévalence (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
	\geq 40 ans		N = 261		N = 236	
		Positif	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)
		Négatif	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)		0,5 (1/183) (0,0, 1,8)	
		Prévalence (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

*74 femmes avec des résultats issus du Aptima HPV assay n'avaient pas de résultat de test HPV ADN, en raison principalement du volume insuffisant de l'échantillon cytologique.

Population NILM ≥ 30 ans : performances cliniques du Aptima HPV assay avec les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep lors de l'évaluation initiale

Au total, 11 644 femmes avec des résultats cytologiques de NILM ont été incluses dans l'étude NILM ; parmi celles-ci, 773 ont été retirées de l'étude. Les 10 871 femmes restantes étaient éligibles pour être testées avec le Panther Système. Onze femmes avaient des échantillons manquants et étaient exclues de l'évaluation initiale de l'Aptima HPV assay sur le Panther System. Les 10 860 femmes évaluables restantes avaient 30 ans et plus et des résultats cytologiques de NILM ainsi que des résultats avec le Aptima HPV assay sur le Panther Système. Sur les 512 femmes dont les résultats étaient positifs avec le Aptima HPV assay sur le Panther Système, 284 ont subi une coloscopie. Sur les 10 348 femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV assay, 580 ont subi une coloscopie. Vingt (20) femmes présentaient des lésions ≥ CIN2 et onze (11) des lésions ≥ CIN3 ; 798 femmes présentaient une histologie normale/CIN1 ; 46 femmes avaient un statut pathologique indéterminé. Les résultats du Aptima HPV assay par rapport au diagnostic du panel d'examen histologique consensuel sont indiqués dans le tableau 46.

Tableau 46 : Population NILM ≥ 30 ans : résultats du Aptima HPV assay et d'un test HPV ADN par rapport au diagnostic du panel d'examen histologique consensuel lors de l'évaluation initiale

Résultat du Aptima HPV Assay*	Test HPV ADN	Diagnostic du panel d'examen histologique consensuel						
		Indéterminé**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	Total
Positif	Positif	11	211	12	4	7	2	247
Positif	Négatif	2	19	0	0	0	1	22
Positif	Aucun résultat***	2	12	1	0	0	0	15
Négatif	Positif	10	170	7	2	1	0	190
Négatif	Négatif	20	353	9	2	0	0	384
Négatif	Aucun résultat***	1	4	0	1	0	0	6
Total		46	769	29	9	8	3****	864

*Tous les échantillons disposaient de résultats finaux valides (lors du test initial ou après résolution des résultats initiaux non valides par la procédure).

**46 sujets se sont rendus à la consultation de coloscopie mais le diagnostic n'a pas pu être déterminé pour les raisons suivantes : échantillons de biopsie déterminés comme étant inadéquats (n = 29), aucune biopsie prélevée (n = 15) et lames de biopsie perdues (n = 2).

***21 femmes avec des résultats issus du Aptima HPV assay n'avaient pas de résultat de test HPV ADN, en raison principalement du volume insuffisant de l'échantillon cytologique.

****Trois femmes ont présenté un adénocarcinome in situ (AIS).

Au total, 10 042 femmes présentaient un statut pathologique non vérifié (incluant les statuts indéterminés) (tableau 47). La proportion de femmes avec un statut pathologique non vérifié était élevée dans ce groupe (96,6 %), puisque seules les femmes sélectionnées aléatoirement disposant de résultats négatifs avec le Aptima HPV assay réalisé sur le Tigris DTS System et avec le test DNA HPV disponible dans le commerce étaient orientées vers une coloscopie. Pour corriger ce biais de vérification, une méthode d'imputation multiple a été utilisée pour estimer le nombre de femmes atteintes de lésions qui auraient été identifiées si toutes les femmes avaient subi une coloscopie. Les estimations de performance corrigées pour tenir compte du biais de vérification et les estimations de performance non corrigées basées sur les 818 femmes disposant d'un statut pathologique vérifié sont présentées.

Tableau 47 : Population NLIM ≥ 30 ans : classification des femmes NLIM évaluables d'après les résultats du Aptima HPV assay et du test HPV ADN, le statut pathologique (≥ CIN2 et ≥ CIN3) et le statut de vérification de la maladie

Résultat du Aptima HPV Assay*		Test HPV ADN	Total femmes	Statut pathologique vérifié : ≥ CIN2		Statut pathologique vérifié : ≥ CIN3		Statut pathologique non vérifié
Panther Système	Tigris DTS System			Femmes atteintes (≥ CIN2)	Femmes non atteintes (lésions < CIN2)	Femmes atteintes (lésions ≥ CIN3)	Femmes non atteintes (lésions < CIN3)	Femmes avec un statut pathologique inconnu (% inconnu)
Positif	Positif	Positif	313	13	189	9	193	111 (35,5 %)
Positif	Positif	Négatif	37	1	18	1	18	18 (48,6 %)
Positif	Positif	Aucun résultat**	22	0	13	0	13	9 (40,9 %)
Positif	Négatif	Positif	70	0	34	0	34	36 (51,4 %)
Positif	Négatif	Négatif	60	0	1	0	1	59 (98,3 %)
Positif	Négatif	Aucun résultat**	10	0	0	0	0	10 (100 %)
Négatif	Positif	Positif	46	0	33	0	33	13 (28,3 %)
Négatif	Positif	Négatif	113	1	41	0	42	71 (62,8 %)
Négatif	Positif	Aucun résultat**	8	0	4	0	4	4 (50,0 %)
Négatif	Négatif	Positif	236	3	144	1	146	89 (37,7 %)
Négatif	Négatif	Négatif	9354	1	321	0	322	9032 (96,6 %)
Négatif	Négatif	Aucun résultat**	591	1	0	0	1	590 (99,8 %)
Total			10 860	20	798	11	807	10 042 (92,5 %)

*Tous les échantillons disposaient de résultats finaux (lors du test initial ou après résolution des résultats initiaux non valides par la procédure).

**631 femmes avec des résultats issus du Aptima HPV assay n'avaient pas de résultat de test DNA HPV, en raison principalement du volume insuffisant de l'échantillon cytotologique.

La prévalence corrigée de lésions \geq CIN2 et \geq CIN3 chez les femmes avec des résultats cytologiques NILM était respectivement de 0,9 % et 0,4 %. Les estimations corrigées du risque absolu et relatif pour la détection des lésions \geq CIN2 et \geq CIN3 sont indiquées dans le tableau 48. Le risque relatif corrigé de lésions \geq CIN2 était de 7,5 (IC à 95 % : 2,1 ; 26,3), indiquant qu'une femme avec des résultats positifs avec le Aptima HPV assay a 7,5 fois plus de risques de développer des lésions \geq CIN2 qu'une femme dont les résultats du Aptima HPV assay sont négatifs. Le risque relatif corrigé de lésions \geq CIN3 était de 24,9 (IC à 95 % : 2,0 ; 307,0). Les estimations non corrigées de risque absolu et relatif pour la détection des lésions \geq CIN2 et \geq CIN3 sont indiquées de manière globale dans le tableau 49 et par groupe d'âge dans le tableau 50.

Tableau 48 : Population NLIM \geq 30 ans : risques absolu et relatif de lésions \geq CIN2 et \geq CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV assay et d'un test HPV ADN (estimations corrigées pour tenir compte du biais de vérification) lors de l'évaluation initiale

	Résultat du test	Aptima HPV Assay		Test HPV ADN	
		Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)	Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)
\geq CIN2	Positif	4,5 (2,7, 7,4)	7,5 (2,1, 26,3)	3,7 (2,3, 6,1)	7,3 (1,6, 33,5)
	Négatif	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Prévalence (%)	0,9		0,9	
\geq CIN3	Positif	3,0 (1,6, 5,5)	24,9 (2,0, 307,0)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,8)
	Négatif	0,1 (0,0, 1,7)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Prévalence (%)	0,4		0,4	

Tableau 49 : Population NLIM \geq 30 ans : risques absolu et relatif de lésions \geq CIN2 et \geq CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV assay et d'un test HPV ADN (estimations non corrigées) lors de l'évaluation initiale

	Résultat du test	Aptima HPV Assay N = 818		Test HPV ADN N = 800*	
		Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)	Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)
\geq CIN2	Positif	5,2 (14/269) (3,5, 6,6)	4,8 (1,9, 12,3)	3,8 (16/416) (2,9, 4,5)	4,9 (1,4, 16,8)
	Négatif	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Prévalence (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)	
\geq CIN3	Positif	3,7 (10/269) (2,5, 4,3)	20,4 (2,6, 159)	2,4 (10/416) (1,6, 2,7)	9,2 (1,2, 71,8)
	Négatif	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Prévalence (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)	

*18 femmes avec des résultats issus du Aptima HPV assay n'avaient pas de résultat de test DNA HPV, en raison principalement du volume insuffisant de l'échantillon cytologique.

Tableau 50 : Population NLIM ≥ 30 ans : risques absolu et relatif de lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3 d'après les résultats de l'Aptima HPV assay et d'un test DNA HPV par groupe d'âge (estimations non corrigées) lors de l'évaluation initiale

	Âge	Résultat du test	Aptima HPV Assay N = 818		Test DNA HPV N = 800*	
			Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)	Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)
≥ CIN2	30 à 39 ans		N = 383		N = 376	
		Positif	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)
		Négatif	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)		1,2 (2/161) (0,2, 3,2)	
		Prévalence (%)	2,3 (9/383)		2,4 (9/376)	
	≥ 40 ans		N = 435		N = 424	
		Positif	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)
		Négatif	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)		0,4 (1/223) (0,0, 1,8)	
		Prévalence (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
≥ CIN3	30 à 39 ans		N = 383		N = 376	
		Positif	3,3 (5/153) (1,6, 4,1)	7,5 (0,9, 63,7)	2,3 (5/215) (1,1, 2,9)	3,7 (0,4, 31,7)
		Négatif	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)		0,6 (1/161) (0,0, 2,2)	
		Prévalence (%)	1,6 (6/383)		1,6 (6/376)	
	≥ 40 ans		N = 435		N = 424	
		Positif	4,3 (5/116) (2,2, 5,1)	Non calculable	2,5 (5/201) (1,3, 2,8)	Non calculable
		Négatif	0,0 (0/319) (0,0, 0,8)		0,0 (0/223) (0,0, 1,1)	
		Prévalence (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

*18 femmes avec des résultats issus du Aptima HPV assay n'avaient pas de résultat de test HPV ADN, en raison principalement du volume insuffisant de l'échantillon cytologique.

Les estimations corrigées de performance clinique du Aptima HPV assay, incluant la sensibilité, la spécificité, la VPP et la VPN, dans la détection des lésions \geq CIN2 et \geq CIN3 sont indiquées dans le tableau 51 ainsi que les estimations du test HPV ADN disponible dans le commerce. Les estimations non corrigées de performance clinique sont indiquées dans le tableau 52. Le Aptima HPV assay et le test HPV ADN disponible dans le commerce ont montré une sensibilité similaire ; en revanche, la spécificité était nettement plus élevée pour le Aptima HPV assay (les IC à 95 % ne se chevauchent pas). Les estimations du coefficient de prévision du Aptima HPV assay étaient cliniquement pertinentes et similaires aux estimations du test HPV ADN disponible dans le commerce. Les VPN étaient similaires mais pour la détection des lésions \geq CIN2, la VPP pour le Aptima HPV assay était légèrement supérieur à celui du test HPV ADN disponible dans le commerce (4,5 % contre 3,7 %).

Tableau 51 : Population NLIM \geq 30 ans : performances cliniques du Aptima HPV assay et d'un test HPV ADN pour la détection des lésions \geq CIN2 et \geq CIN3 (estimations corrigées pour tenir compte du biais de vérification) lors de l'évaluation initiale

	Performances	Aptima HPV Assay		Test HPV ADN	
		Estimation	(IC à 95 %)	Estimation	(IC à 95 %)
\geq CIN2	Sensibilité (%)	28,4	(4,9, 51,8)	35,4	(3,8, 66,9)
	Spécificité (%)	95,5	(95,1, 95,9)	93,7	(93,2, 94,2)
	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)
	Prévalence (%)	0,9 (0,0, 1,9)		0,9 (0,0, 1,9)	
\geq CIN3	Sensibilité (%)	54,0	(3,6, 100)	56,4	(0,4, 100)
	Spécificité (%)	95,4	(95,0, 95,8)	93,6	(93,1, 94,1)
	VPP (%)	3,0	(1,6, 5,5)	2,3	(1,3, 4,1)
	VPN (%)	99,9	(98,3, 100)	99,9	(97,6, 100)
	Prévalence (%)	0,4 (0,0, 1,2)		0,4 (0,0, 1,3)	

Tableau 52 : Population NLIM ≥ 30 ans : performances cliniques du Aptima HPV assay et d'un test HPV ADN pour la détection des lésions ≥CIN2 et ≥CIN3 (estimations non corrigées) lors de l'évaluation initiale

	Performances	Aptima HPV Assay N = 818		Test HPV ADN N = 800*	
		Estimation	(IC à 95 %)	Estimation	(IC à 95 %)
≥ CIN2	Sensibilité (%)	70,0 (14/20)	(48,1, 85,5)	84,2 (16/19)	(62,4, 94,5)
	Spécificité (%)	68,0 (543/798)	(64,7, 71,2)	48,8 (381/781)	(45,3, 52,3)
	VPP (%)	5,2 (14/269)	(3,5, 6,6)	3,8 (16/416)	(2,9, 4,5)
	VPN (%)	98,9 (543/549)	(98,1, 99,5)	99,2 (381/384)	(98,1, 99,8)
	Prévalence (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)	
≥ CIN3	Sensibilité (%)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)
	Spécificité (%)	67,9 (548/807)	(64,6, 71,0)	48,5 (383/789)	(45,1, 52,0)
	VPP (%)	3,7 (10/269)	(2,5, 4,3)	2,4 (10/416)	(1,6, 2,7)
	VPN (%)	99,8 (548/549)	(99,2, 100)	99,7 (383/384)	(98,9, 100)
	Prévalence (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)	

*18 femmes avec des résultats issus du Aptima HPV assay n'avaient pas de résultat de test HPV ADN, en raison principalement du volume insuffisant de l'échantillon cytologique.

La comparaison directe entre le Aptima HPV assay sur le Panther System et le test HPV ADN disponible dans le commerce démontre une sensibilité similaire et une amélioration statistiquement significative de la spécificité du Aptima HPV assay par rapport au test HPV ADN disponible dans le commerce dans la détection des lésions \geq CIN2, comme l'indiquent les ratios des taux de vrais positifs et de faux positifs (tableau 53 et tableau 54).

Tableau 53 : Population NILM \geq 30 ans : ratio des taux de vrais positifs (Aptima HPV assay/test HPV ADN) chez les femmes avec des lésions \geq CIN2 (estimations non corrigées) lors de l'évaluation initiale

		Test HPV ADN		Total
		Positif	Négatif	
Aptima HPV Assay	Positif	13	1	14 (73,7 %)
	Négatif	3	2	5
	Total	16 (84,2 %)	3	19
Ratio des taux de vrais positifs = 0,88 (14/16) (IC à 95 % : 0,65 ; 1,10)				

Tableau 54 : Population NILM \geq 30 ans : ratio des taux de vrais positifs (Aptima HPV assay/test DNA HPV) chez les femmes avec des lésions $<$ CIN2 (estimations non corrigées) lors de l'évaluation initiale

		Test HPV ADN		Total
		Positif	Négatif	
Aptima HPV Assay	Positif	223	19	242 (31,0 %)
	Négatif	177	362	539
	Total	400 (51,2 %)	381	781
Ratio des taux de faux positifs = 0,61 (242/400) (IC à 95 % : 0,55 ; 0,66)				

Population NILM \geq 30 ans : Performances cliniques du Aptima HPV assay sur le Panther System après 3 ans de suivi

La phase de suivi comptait 10 843 femmes admissibles, âgées de 30 ans minimum, avec des résultats cytologiques NILM et des résultats valides de l'Aptima HPV assay sur le Panther System lors de l'évaluation initiale. Parmi les femmes sans lésions \geq CIN2, 67,0 % (7 247/10 823) ont eu une visite Pap de suivi l'année 1, 60,3 % (6 517/10 814) l'année 2 et 58,7 % (6 339/10 807) l'année 3. En tout, 58,8 % (6 375/10 843) des femmes ont terminé l'étude (avec des lésions \geq CIN2 lors de l'évaluation initiale ou lors du suivi, et/ou participé aux visites obligatoires).

Sur les 10 843 femmes évaluables, 511 (4,7 %) avaient des résultats positifs au Aptima HPV assay sur le Panther System, lors de l'évaluation initiale. Parmi ces 511 femmes, 255 (49,9 %) avaient un statut pathologique positif ou négatif sur 3 ans d'après les résultats cytologiques ou de colposcopie/biopsie. Les 10 332 femmes restantes avaient des résultats négatifs de au Aptima HPV assay sur le Panther System, lors de l'évaluation initiale. Parmi

ces 10 332 femmes, 5 946 (57,5 %) avaient un statut pathologique positif ou négatif sur 3 ans. Sur les 6 201 femmes au statut pathologique sur 3 ans, 47 femmes avaient des lésions \geq CIN2, dont 23 avec des lésions \geq CIN3, 6 154 femmes avaient des résultats normaux/CIN1 d'après le panel d'examen histologique consensuel. Le tableau 55 affiche les résultats initiaux du Aptima HPV assay sur le Panther System et le test HPV ADN disponible dans le commerce, ainsi que le statut de la maladie sur 3 ans (comprenant l'évaluation initiale et de suivi) d'après le panel d'examen histologique consensuel.

Tableau 55 : NILM Population \geq 30 ans : Classification des femmes admissibles à la phase de suivi d'après les résultats de période initiale au Aptima HPV assay, les résultats de période initiale au test HPV DNA, et le statut de la maladie (\geq CIN2, \geq CIN3, Non vérifié) déterminé lors des phases initiales et de suivi

Résultat au Aptima HPV Assay	Test HPV ADN	Ensemble des femmes	Statut vérifié de maladie : \geq CIN2		Statut vérifié de maladie : \geq CIN3		Statut non vérifié de maladie	
			Femmes atteintes (\geq CIN2)	Femmes non atteintes (<CIN2)	Femmes atteintes (\geq CIN3)	Femmes non atteintes (<CIN3)	Perdus au suivi	Indéterminé*
Positif	Positif	382	23	171	16	178	167	21
Positif	Négatif	97	1	48	1	48	44	4
Positif	Pas de résultat**	32	2	10	1	11	17	3
Négatif	Positif	281	5	129	2	132	130	17
Négatif	Négatif	9452	15	5476	3	5488	3756	205
Négatif	Pas de résultat**	599	1	320	0	321	264	14
Total		10843	47	6154	23	6178	4378	264

*Les femmes qui avaient des résultats de test cytologiques anormaux lors de la période de suivi et qui n'avaient pas de résultat suivant du Panel d'examen histologique consensuel et les femmes avec une cytologie inadéquate à leur dernière visite, 174 femmes avec un statut de malade indéterminé ont terminé la phase de suivi selon le protocole.

**631 femmes avec les résultats de l'Aptima HPV assay n'ont pas eu de résultats de test HPV DNA principalement en raison du volume insuffisant d'échantillons cytologiques.

Les résultats de risque de maladie cumulatif sur 3 ans (\geq CIN2 et \geq CIN3) se fondent sur l'estimation Kaplan-Meier (analyse de table de survie) et comprennent une maladie détectée lors de l'évaluation initiale ou de la phase de suivi. Les femmes qui présentaient des indications de maladie (ASC-US ou résultats cytologiques plus sévères) mais sans panel d'examen histologique consensuel ont été incluses dans l'analyse en utilisant une méthode d'imputation multiple pour prédire le nombre de femmes souffrant de la maladie qui auraient été identifiées si elles avaient subi une coloscopie.

Les estimations des risques absolu et relatif cumulatifs sur trois ans pour la détection des \geq CIN2 et \geq CIN3 sont présentées dans le Tableau 56.

Tableau 56 : NILM Population ≥ 30 ans : risques absolu et relatif cumulatifs sur 3 ans* de ≥CIN2 et ≥CIN3 pour les résultats du Aptima HPV assay et du test HPV ADN lors de l'évaluation initiale

	Résultat à l'essai	Aptima HPV Assay		Test HPV ADN	
		Risque absolu (95% CI)	Risque relatif (95% CI)	Risque absolu (95% CI)	Risque relatif (95% CI)
≥CIN2	Positif	7,90 (5,50, 11,27)	24,45 (13,85, 43,15)	6,43 (4,50, 9,14)	22,71 (12,20, 42,30)
	Négatif	0,32 (0,21, 0,51)		0,28 (0,17, 0,47)	
	Prévalence (%)	0,68		0,68	
≥CIN3	Positif	5,23 (3,34, 8,13)	57,11 (21,09, 154,62)	4,14 (2,62, 6,52)	51,34 (17,74, 148,58)
	Négatif	0,09 (0,04, 0,23)		0,08 (0,03, 0,22)	
	Prévalence (%)	0,34		0,35	

*Les risques cumulatifs sur 3 ans ajustés pour d'autres biais possibles étaient semblables aux risques dans ce tableau. En raison des différences anticipées des risques au cours de l'année 1 et de l'année 2 pour les deux groupes de femmes dans l'étude de suivi (celles avec une colposcopie lors de l'évaluation initiale et celles sans colposcopie lors de l'évaluation initiale), seul le risque cumulatif sur 3 ans pour les groupes combinés a été reporté.

La prévalence cumulée sur 3 ans de ≥CIN2 et ≥CIN3 chez les femmes avec des résultats cytologiques NILM lors de l'évaluation initiale a été de 0,68 % et de 0,34 %, respectivement. Le risque relatif de ≥CIN2 était de 24,45 (95 % CI : 13,85, 43,15), ce qui indique qu'une femme dont le résultat au Aptima HPV assay était positif sur le Panther System a 24,45 fois plus de risques d'avoir des lésions ≥CIN2 qu'une femme dont le résultat était négatif. Le risque relatif de ≥CIN3 était de 57,11 (95 % CI : 21,09, 154,62).

Performance clinique du Aptima HPV assay avec les échantillons cytologiques en milieu liquide SurePath

Des échantillons cytologiques en milieu liquide SurePath ont été recueillis auprès de femmes canadiennes (n = 558) lors d'une consultation de suivi en raison d'un ou plusieurs frottis anormaux, d'une infection HPV ou d'autres raisons. Un aliquote (0,5 ml) de chaque échantillon a été transféré dans un tube de transfert d'échantillons Aptima puis a été traité par de la solution de transfert Aptima. Un seul réplicat de chaque échantillon a été testé avec le Aptima HPV assay. Un aliquote distinct (1 ml) de chaque échantillon a été prélevé pour être évalué avec un test PCR HPV disponible dans le commerce. La sensibilité clinique de détection de la maladie, définie par un résultat histologique \geq CIN3, a été calculée pour le Aptima HPV assay et pour le test PCR HPV, comme indiqué dans le tableau 57, avec les coefficients de prévision positif et négatif.

Tableau 57 : Performances du Aptima HPV assay et d'un test PCR HPV pour la détection de lésions \geq CIN3

Performances	Aptima HPV Assay N = 558		Test PCR HPV N = 558	
	Estimation	(IC à 95 %)	Estimation	(IC à 95 %)
Sensibilité (%)	89,3 (25/28)	(72,8-96,3)	89,3 (25/28)	(72,8-96,3)
Spécificité (%)	58,7 (311/530)	(54,4-62,8)	49,1 (260/530)	(44,8-53,3)
VPP (%)	10,2 (25/244)	(8,4-11,7)	8,5 (25/295)	(7,0-9,5)
VPN (%)	99,0 (311/314)	(97,6-99,8)	98,9 (260/263)	(97,2-99,7)
Prévalence (%)	5,0 (28/558)		5,0 (28/558)	

Performance du Aptima HPV assay avec les échantillons prélevés avec le kit de collecte et de transport pour échantillon cervical

Des échantillons cliniques positifs pour HPV à haut risque et négatifs pour HPV à haut risque prélevés avec le kit CSCT Aptima dans des populations testées dans le cadre du dépistage (consultation de routine) et d'une orientation (consultation pour colposcopie) ont été testés avec le Aptima HPV assay sur le Panther Système et le Tigris DTS System en utilisant deux lots de réactifs. La concordance entre le Panther Système et le Tigris DTS System pour les échantillons prélevés avec le kit CSCT est indiquée dans le tableau 58.

Pour les échantillons prélevés avec le kit CSCT, la concordance globale entre le Panther Système et le Tigris DTS System était > 98 %, comme indiqué dans le tableau 58. Parmi les 632 échantillons cliniques analysés, 69 étaient des lésions \geq CIN2 et 38 étaient des lésions \geq CIN3. La sensibilité du Aptima HPV assay pour la détection des lésions \geq CIN2 était de 97,1 % (IC à 95 % : 90,0 % , 99,2 %) avec le Panther Système et de 98,6 % (IC à 95 % : 92,2 % , 99,7 %) avec le Tigris DTS System. La sensibilité du test pour la détection des lésions \geq CIN3 était de 100 % (IC : 90,8 % , 100 %) aussi bien avec le Panther Système qu'avec le Tigris DTS System.

Tableau 58 : Concordance des résultats du Aptima HPV assay obtenus avec des échantillons prélevés avec le kit CSCT Aptima analysés sur le Tigris DTS System et le Panther Système

		Tigris DTS System		Total
		Positif	Négatif	
Panther Système	Positif	490	3	493
	Négatif	9	130	139
	Total	499	133	632

Concordance globale = 98,1 % (IC 96,7 , 98,9)

Concordance positive = 98,2 % (IC 96,6 , 99,0)

Concordance négative = 97,7 % (IC 93,6 , 99,2)

Sensibilité analytique

Le seuil de détection (SD) du seuil clinique est une concentration de RNA (Acide ribonucléique) du HPV qui donne un résultat positif (supérieur au seuil clinique) 95 % du temps. Le SD du Aptima HPV assay a été déterminé en testant des panels de dilution de transcrits in vitro (in vitro transcript, IVT) des 14 génotypes à haut risque et de 4 lignées cellulaires infectées par le HPV : SiHa, HeLa, MS751 et ME180 (ATCC, Manassas, Virginie, États-Unis). Pour les panels d'IVT, le milieu pour transport d'échantillon a été supplémenté avec l'IVT à différentes concentrations, puis dilué avec des échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep individuellement négatifs, avant de procéder aux tests. Pour les panels de cellules infectées par le HPV, des groupes d'échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep négatifs pour le HPV ont été supplémentés avec des cellules infectées par le HPV à différentes concentrations, puis dilués avec du milieu pour transport d'échantillons, avant de procéder aux tests. Trente réplicats de chaque taux de copie ont été testés avec chacun des deux lots de réactifs pour un total de 60 réplicats. Les tests ont été exécutés sur une période de 17 jours, avec 1 à 12 séries réalisées par jour, chaque série comprenant le test de 5 réplicats d'un génotype et d'une concentration donnés. Le seuil de détection de 95 % a été calculé par une analyse de régression Probit des résultats de positivité pour chaque panel de dilution.

Les résultats de l'analyse Probit dans le tableau 59 indiquent que les types 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59 et 68 de HPV avaient des seuils de détection de 95 % inférieurs à 100 copies/réaction et que les types 52, 58 et 66 avaient des seuils de détection de 95 % entre 100 et 500 copies/réaction. Les seuils de détection de 95 % des quatre lignées cellulaires testées étaient inférieurs à 1 cellule/réaction.

Tableau 59 : Seuil de détection du seuil clinique pour le Aptima HPV assay

Cible	Seuil de détection* (IC à 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)

*Copies par réaction pour les transcrits in vitro et cellules par réaction pour les lignées cellulaires.

Précision du test

La précision du Aptima HPV assay a été évaluée dans deux études en utilisant le même panel de 20 échantillons. L'étude 1 a été menée sur 3 sites de test (2 sites externes et 1 site interne) et l'étude 2 a été menée en interne. Le panel comprenait 13 échantillons positifs au HPV avec des concentrations égales ou supérieures au seuil de détection du test (positivité attendue : $\geq 95\%$), 3 échantillons positifs au HPV avec des concentrations inférieures au seuil de détection du test (positivité attendue : $> 0\%$ à $< 25\%$), et 4 échantillons négatifs au HPV. Les échantillons du panel positifs au HPV ont été préparés en ajoutant des transcrits in vitro (in vitro transcript, IVT) de RNA (Acide ribonucléique) à de la solution PreservCyt diluée avec du milieu de transport d'échantillons (specimen transport medium, STM) ou des cultures cellulaires infectées par le HPV (SiHa, HeLa et MS751 ; ATCC, Manassas, Virginia, États-Unis) à des groupes d'échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep négatifs dilués avec du STM. Les échantillons du panel négatifs au HPV ont été préparés avec de la solution PreservCyt ou des groupes d'échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep négatifs dilués avec du STM.

Dans l'étude 1, 2 opérateurs sur chacun des 3 sites de test (1 appareil par site) ont réalisé 2 listes de travail du Aptima HPV assay par jour (1 avec chaque lot de réactif), pendant 3 jours. Chaque liste de travail contenait 3 réplicats de chacun des échantillons du panel de reproductibilité. Cent huit (108) tubes individuels d'échantillon ont été testés pour chaque échantillon du panel (3 sites x 1 appareil x 2 opérateurs x 2 lots x 3 listes de travail x 3 réplicats). Dans l'étude 2, le test a été mené en interne pendant 13 jours, avec un total de 162 réactions testées pour chaque échantillon du panel (1 site x 3 appareils x 3 opérateurs x 3 lots x 2 listes de travail x 3 réplicats).

Les échantillons du panel sont décrits dans le tableau 60a (échantillons du panel avec résultats positifs prévus) et le tableau 60b (échantillons du panel avec résultats négatifs prévus), avec un résumé de la concordance avec les résultats prévus et les valeurs de S/CO d'analyte aux 2,5e, 50e et 97,5e percentiles de la distribution du S/CO. La variabilité du S/CO d'analyte pour les échantillons du panel avec des résultats positifs prévus est indiquée dans le tableau 61 pour l'étude 1 et le tableau 62 pour l'étude 2.

Tableau 60a : Études 1 et 2 de précision du Aptima HPV assay : description du panel, concordance positive et distribution des percentiles des valeurs du S/CO d'analyte pour les échantillons du panel avec des résultats positifs prévus

Description du panel (copies ou cellules/réaction)	Étude 1 (3 sites de test)	Étude 2 (1 site de test)
	% de concordance positive (IC à 95 %)	% de concordance positive (IC à 95 %)
Échantillon clinique 1 fortement positif au HPV	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Échantillon clinique 2 fortement positif au HPV	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT de HPV 16 (1830 copies)	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (161/161) (97,1, 100)
IVT de HPV 18 (1550 copies)	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Échantillon clinique 1 faiblement positif au HPV	94,4 (101/107) (88,3, 97,4)	89,5 (145/162) (83,3, 93,3)
Échantillon clinique 2 faiblement positif au HPV	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)
Échantillon clinique 3 faiblement positif au HPV	100 (108/108) (96,6, 100)	97,5 (157/161) (93,8, 99,0)
Échantillon clinique 4 faiblement positif au HPV	90,7 (98/108) (83,8, 94,9)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
IVT de HPV 16 (183 copies)	100 (102/102) (96,4, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT de HPV 18 (155 copies)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (159/159) (97,6, 100)
Cellules MS751 (0,63 cellule)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellules HeLa (0,35 cellule)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellules SiHa (0,90 cellule)	87,9 (94/107) (80,3, 92,8)	89,5 (145/162) (83,8, 93,3)

IVT = transcrit in vitro

*Concordance positive prévue en % ~95 % ; valeur observée inférieure éventuellement en raison de la variabilité de fabrication de l'échantillon du panel.

Tableau 60b : Études 1 et 2 de précision du Aptima HPV assay : description du panel, concordance négative et distribution des percentiles des valeurs du S/CO d'analyte pour les échantillons du panel avec des résultats négatifs prévus

Description du panel (copies ou cellules/réaction)	Étude 1 (3 sites de test)	Étude 2 (1 site de test)
	% de concordance négative (IC à 95 %)	% de concordance négative (IC à 95 %)
Cellules MS751 (0,005 cellule)	87,0 (94/108) (79,4, 92,1)	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)
Cellules SiHa (0,008 cellule)	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)
Cellules HeLa (0,02 cellule)	70,4 (76/108) (61,2, 78,2)	67,3 (109/162) (59,8, 74,0)
Échantillon clinique 1 négatif au HPV	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
Échantillon clinique 2 négatif au HPV	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	100 (162/162) (97,7, 100)
Solution PreservCyt 1	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
Solution PreservCyt 2	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (161/161) (97,7, 100)

IVT = transcrit in vitro.

*% prévu de concordance négative > 75 % et < 100 %.

Tableau 61 : Étude 1 de précision du Aptima HPV assay : variabilité du signal pour les échantillons du panel avec résultats positifs prévus

Description du panel (copies ou cellules/réaction)	n	S/CO moyen	Inter-appareil		Inter- opérateur		Inter-lot		Inter-liste de travail		Intra-liste de travail		Total	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Échantillon clinique 1 fortement positif au 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
Échantillon clinique 2 fortement positif au 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 de HPV 16 (1830 copies)	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 de HPV 18 (1550 copies)	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
Échantillon clinique 1 faiblement positif au 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
Échantillon clinique 2 faiblement positif au 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
Échantillon clinique 3 faiblement positif au 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
Échantillon clinique 4 faiblement positif au 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 de HPV 16 (183 copies)	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 de HPV 18 (155 copies)	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
Cellules 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
Cellules 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
Cellules 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

*Douze échantillons ont produit des résultats non valides avec le Aptima HPV assay (1 pour l'échantillon clinique 1 fortement positif à HPV, 1 pour l'échantillon clinique 2 fortement positif à HPV, 1 pour l'IVT de HPV 16 (1830 copies), 1 pour l'IVT de HPV 18 (1550 copies), 1 pour l'échantillon clinique 1 faiblement positif à HPV, 6 pour l'IVT de HPV 16 (183 copies) et 1 pour les cellules SiHa [0,90 cellule]).

CV = coefficient de variation ; IVT = transcrit in vitro ; SD = écart-type

Remarque : La variabilité due à certains facteurs peut être négative numériquement. Cela peut se produire si la variabilité due à ces facteurs est très petite. Dans ces cas, l'écart-type (SD) et le CV sont indiqués comme 0.

Tableau 62 : Étude 2 de précision du Aptima HPV assay : variabilité du signal pour les échantillons du panel avec résultats positifs prévus

Description du panel (copies ou cellules/réaction)	n	S/CO moyen	Inter-appareil		Inter- opérateur		Inter-lot		Inter-liste de travail		Intra-liste de travail		Total	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Échantillon clinique 1 fortement positif au 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
Échantillon clinique 2 fortement positif au 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 de HPV 16 (1830 copies)	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 de HPV 18 (1550 copies)	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
Échantillon clinique 1 faiblement positif au 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
Échantillon clinique 2 faiblement positif au 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
Échantillon clinique 3 faiblement positif au 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
Échantillon clinique 4 faiblement positif au 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 de HPV 16 (183 copies)	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 de HPV 18 (155 copies)	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
Cellules 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
Cellules 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
Cellules 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

*Six échantillons ont produit des résultats non valides avec le Aptima HPV assay (1 pour l'échantillon clinique 1 fortement positif au HPV, 1 pour l'IVT de HPV 16 (1830 copies), 1 pour l'échantillon clinique 3 faiblement positif au HPV, 3 pour l'IVT de HPV 18 (155 copies)).

CV = coefficient de variation ; IVT = transcrit in vitro ; SD = écart-type

Remarque : La variabilité due à certains facteurs peut être négative numériquement. Cela peut se produire si la variabilité due à ces facteurs est très petite. Dans ces cas, l'écart-type (SD) et le CV sont indiqués comme 0.

Réactivité croisée

Les tests avec des organismes présentant une éventuelle réactivité croisée avec le Aptima HPV assay ont été menés au moyen du Tigris DTS System. Consultez *Réactivité croisée* (tableau 37) dans la section Tigris DTS System pour visualiser les résultats.

Interférence

Les tests de substances potentiellement interférentes avec le Aptima HPV assay ont été menés au moyen du Tigris DTS System. Consultez *Interférence* (tableau 38) dans la section Tigris DTS System pour visualiser les résultats.

Bibliographie

1. **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.
2. **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.
3. **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.
4. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond).* **110(5)**:525-41.
5. **Burd, E.M.** 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev.* **16(1)**:1-17.
6. **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.
7. **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.
8. **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.
9. **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.
10. **Baseman J.G., and L.A. Koutsky.** 2005. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol.* **32 Suppl 1**:S16-24.
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, Lyng 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, Lyng 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. **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.
20. **Pyne MT, Hamula CL, Tardif K, Law C, Schlaberg R.** High-risk HPV detection and genotyping by APTIMA HPV using cervical samples. *Journal of Virological Methods.* 2015;**221**:95-9.
21. **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.
22. **Rebolj M, Bonde J, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Lyng 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.
23. **Rebolj M, Bonde J, Ejegod D, Preisler S, Rygaard C, Lyng E.** A daunting challenge: Human Papillomavirus assays and cytology in primary cervical screening of women below age 30years. *Eur J Cancer.* 2015 Jul;**51(11)**:1456-66.
24. **Kacian, D.L. and T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
25. **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.
26. **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.

27. **Clad, A., M. Reuschenbach, J. Weischenk, R. Grote, J. Rahmsdorf, and N. Freudenberg.** Performance of the Aptima high-risk HPV mRNA assay in a referral population in comparison with Hybrid Capture 2 and cytology. 2010. *J Clin Microbiol*, n/a. doi: 10.1128/JCM.01674-10.
28. **Ratnam S., F. Coutless, D. Fontaine, J. Bentley, N. Escott, P. Ghatage, G. Holloway, E. Bartellas, N. Kum, and A. Lear.** 2008. Clinical Correlations of Aptima HPV E6/E7 mRNA Test in Cervical Cancer Screening: Preliminary Results from a Multicentre Canadian Study. Presented at EUROGIN 2008, November 12-15, 2008, Scientific Communication SS **8-6**.
29. **Szarewski A., L. Ambroisine, L. Cadman, J. Austin, L. Ho, G. Terry, S. Little, R. Dina, J. McCarthy, H. Buckley, C. Bergeron, P. Soutter, D. Lyons, and J. Cuzick.** 2008. Comparison of predictors for High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia in Women with Abnormal Smears. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* **17(11)**, November.
30. **Castle P.E., J. Dockter, C. Giachetti, F.A.R. Garcia, M. McCormick, A.L. Mitchell, E.B. Holladay, and D.P. Kolk.** 2007. A Cross-sectional Study of a Prototype Carcinogenic Human Papillomavirus E6/E7 Messenger RNA Assay for Detection of Cervical Pre-cancer and Cancer. *Clin Cancer Res.* **13(9)**. 2599.
31. **Monsonogo J., M.G. Hudgens, L. Zerat, J.C. Zerat, K. Syrjänen, P. Halfon, F. Ruiz, and J.S. Smith.** 2010. Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid based cytology in primary cervical cancer screening (The FASE study). *Int J Cancer.* n/a. doi 10.1002/ijc.25726.
32. **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.
33. **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.
34. **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.
35. **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.
36. **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.
37. **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.



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

Service clients : +1 844 Hologic (+1 844 465 6442)
customersupport@hologic.com

Service technique : +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

Pour obtenir des coordonnées supplémentaires, visitez le site
www.hologic.com.

Ce produit est destiné à être utilisé uniquement pour des diagnostics *in vitro* humains.

Hologic, Aptima, DTS, Leader, Panther, PreservCyt, SB100, ThinPrep et Tigris sont des marques commerciales et/ou des marques déposées d'Hologic, Inc. et/ou de ses filiales aux États-Unis et/ou dans d'autres pays.

eppendorf (stylisé) et REPEATER sont des marques commerciales de Eppendorf AG

RAININ est une marque commerciale de Rainin Instruments, LLC.

TECAN et FREEDOM EVO sont des marques commerciales de Tecan Group AG.

SUREPATH et PREPSTAIN sont des marques commerciales de TriPath Imaging, Inc.

Toutes les autres marques commerciales qui peuvent apparaître dans ce notice sont des marques commerciales de leurs détenteurs respectifs.

© 2007-2017 Hologic, Inc. Tous droits réservés.
AW-14517-901 Rev. 003

2017-04