

DESTINÉ AU DIAGNOSTIC *IN VITRO*.

cobas® 4800 System Sample Preparation Kit	c4800 SMPL PREP	960 Tests	P/N: 05235804190
		240 Tests	P/N: 05235782190
cobas® 4800 HPV Amplification/Detection Kit	c4800 HPV AMP/DET	960 Tests	P/N: 05235910190
		240 Tests	P/N: 05235901190
cobas® 4800 HPV Controls Kit	c4800 HPV CTLS	10 Sets	P/N: 05235855190
cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit	c4800 LIQ CYT	960 Tests	P/N: 05235839190
		240 Tests	P/N: 05235812190
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit	c4800 WB	960 Tests	P/N: 05235871190
		240 Tests	P/N: 05235863190

INDICATION : l'achat de ce produit autorise l'acheteur à l'utiliser à des fins d'amplification et de détection des séquences d'acides nucléiques par réaction de polymérisation en chaîne (PCR pour polymérase chain reaction) et processus associés pour les diagnostics *in vitro* humains. Aucun brevet général ou autre licence de tout type autre que ce droit spécifique d'utilisation par l'achat n'est ainsi octroyé.

USAGE PRÉVU

Le test cobas® 4800 de dépistage du virus du papillome humain (ou HPV pour Human Papillomavirus) est un test *in vitro* qualitatif destiné à la détection du virus du papillome humain sur des échantillons de patients. Le test utilise l'amplification de l'ADN cible par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) et hybridation des acides nucléiques pour la détection de 14 types de HPV à haut risque (HR) en une seule analyse. Le test identifie spécifiquement les HPV 16 et HPV 18 tout en détectant simultanément les autres types à haut risque (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68) à des niveaux d'infection cliniquement pertinents. Les échantillons se limitent aux cellules de col de l'utérus prélevées dans le milieu Roche Cell Collection Medium (Roche Molecular Systems, Inc), dans la solution PreservCyt® (Hologic Corp.) et dans le liquide de préservation SurePath™ (BD Diagnostics-TriPath).

Les indications d'utilisation du test cobas® 4800 HPV sont les suivantes :

- L'utilisation du test cobas® 4800 HPV est indiquée dans le cadre du dépistage de patientes avec des résultats cytologiques cervicaux de cellules squameuses atypiques de signification indéterminée (ou ASC-US pour atypical squamous cells of undetermined significance) pour déterminer le besoin d'orientation vers la colposcopie.
- Le test cobas® 4800 HPV est destiné à être utilisé dans le cadre du dépistage des patientes avec des résultats cytologiques cervicaux ASC-US afin de détecter la présence ou l'absence du virus HPV à haut risque de génotypes 16 et 18.
- Le test cobas® 4800 HPV est indiqué pour être utilisé conjointement avec la cytologie cervicale afin d'évaluer la présence ou l'absence de types de HPV à haut risque.
- Le test cobas® 4800 HPV est indiqué pour être utilisé conjointement avec la cytologie cervicale afin d'évaluer la présence ou l'absence des génotypes de HPV 16 et 18.
- Le test cobas® 4800 HPV est indiqué comme test de dépistage primaire de première intention afin d'identifier les femmes présentant un risque accru de développement du cancer du col utérin ou de présence d'une maladie de haut grade.
- Le test cobas® 4800 HPV est indiqué comme test de dépistage primaire de première intention afin d'évaluer la présence ou l'absence des génotypes de HPV 16 et 18.

Le test cobas® HPV peut également être utilisé avec des échantillons vaginaux auto-prélevés sur instruction d'un professionnel de santé, recueillis dans le milieu Roche Cell Collection Medium ou la solution PreservCyt®.

Les résultats du test cobas® HPV, conjointement à l'évaluation de suivi cytologique du médecin, à d'autres facteurs de risque et aux directives professionnelles, peuvent être utilisés dans l'orientation du traitement de la patiente. Les résultats du test cobas® HPV ne sont pas destinés à empêcher les patientes de subir une colposcopie.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU TEST

L'infection persistante par le virus du papillome humain (HPV) est la cause du cancer du col utérin et de son précurseur, la néoplasie intraépithéliale cervicale (CIN)¹⁻³. La présence du HPV est impliquée dans plus de 99 % des cas de cancer du col utérin dans le monde entier³. Le HPV est un petit virus à ADN double-brin non-enveloppé, dont le génome comprend environ 8 000 nucléotides. Il existe plus de 118 types différents de HPV^{4,5} et environ 40 différents virus HPV pouvant infecter la muqueuse anogénitale humaine^{6,7}. Cependant, seul un sous-ensemble comprenant de 13 à 18 de ces types est considéré comme présentant un haut risque de développement du cancer du col utérin et de ses lésions précurseurs^{3,8-13}. L'analyse de données issues d'une étude cas-contrôle multicentre du Centre international de Recherche sur le Cancer (CIRC) a révélé que le rapport de cote (RC) regroupé pour le cancer du col utérin à cellules squameuses avec infection HPV était de 158,2 lorsque l'analyse était limitée aux études utilisant des techniques de validation du HPV validées¹². Dans cette étude, les rapports de cote pour le cancer du col utérin étaient compris entre 109 et 276 selon des études provenant de différentes parties du monde¹².

Bien que l'infection persistante par HPV à haut risque (HR) soit une cause nécessaire du cancer du col utérin et de ses lésions précurseurs, le pourcentage des infections progressant vers ces états pathologiques est très faible. La contraction du HPV par transmission sexuelle est extrêmement courante puisque, selon les estimations, 75 % des femmes sont exposées au HPV un jour ou l'autre¹⁴. Cependant, plus de 90 % des femmes infectées développent une réponse immunitaire efficace et éliminent l'infection au bout de 6 à 24 mois, sans avoir à subir de conséquences à long terme sur leur santé¹⁵⁻²⁰. Une infection par le HPV, quel qu'en soit le type, peut entraîner la néoplasie intraépithéliale cervicale (CIN) bien que celle-ci se dissipe également souvent une fois l'infection au HPV disparue²¹.

Dans les pays développés où existent des programmes de dépistage du cancer du col utérin, le frottis Pap est utilisé depuis le milieu des années 50 comme le principal outil de détection des précurseurs précoces du cancer du col utérin. Bien que ce test ait diminué le taux de mortalité dû au cancer du col utérin de manière spectaculaire dans ces pays, le frottis Pap doit être interprété par des cytopathologistes spécialisés et s'avère être un test relativement peu précis avec un taux élevé de faux négatifs. Les anomalies cytologiques observées dans le frottis Pap sont principalement dues à l'infection par le HPV ; cependant, de nombreuses variations inflammatoires ou d'échantillonnage peuvent entraîner des faux positifs dans les

résultats du frottis Pap. Le triage d'un frottis Pap anormal implique la répétition du test, une coloscopie et une biopsie. Une lésion de degré élevé confirmée de manière histologique doit être retirée chirurgicalement afin d'éviter le développement d'un cancer invasif du col utérin.

Le virus du papillome est extrêmement difficile à cultiver *in vitro*. De plus, les patientes infectées par le HPV ne présentent pas toutes une réponse anticorps. Le test des acides nucléiques (ADN) par PCR est une méthode non invasive pour déterminer la présence d'une infection cervicale par le HPV. La mise en œuvre de tests de détection de l'ADN du HPV a augmenté l'efficacité des programmes de dépistage du cancer du col utérin, grâce à la détection plus précoce des lésions à haut risque chez les femmes de 30 ans et plus avec cytologie NILM (absence de lésion intra-épithéliale ou de malignité) et grâce à la réduction du besoin en coloscopies et traitements inutiles chez les patientes de 21 ans et plus avec cytologie ASC-US (cellules squameuses atypiques de signification indéterminée). En outre, la supériorité de la sensibilité du test de détection du HPV sur celle du frottis Pap pour la détection de maladies de haut grade au sein d'une population de dépistage a été bien documentée^{22,23}. Sa sensibilité supérieure étant établie, le test de détection de l'ADN du HPV en tant que test de dépistage primaire de première intention a été proposé et adopté dans certains programmes.

PRINCIPES DU TEST

Le test **cobas**[®] 4800 HPV repose sur deux procédures majeures : (1) préparation automatisée d'échantillons pour extraire simultanément le HPV et l'ADN cellulaire ; (2) amplification par PCR²⁴ de séquences d'ADN cibles à l'aide de paires d'amorces complémentaires spécifiques de HPV et de β -globine et de la détection en temps réel de HPV clivé marqué par fluorescence et de sondes de détection oligonucléotidiques spécifiques de β -globine. L'extraction, l'amplification et la détection simultanées de β -globine dans le test **cobas**[®] 4800 HPV permettent le contrôle du processus complet de test.

Le réactif Master Mix du test **cobas**[®] 4800 HPV contient des paires d'amorces et des sondes spécifiques pour les types 14 de HPV à haut risque et l'ADN de β -globine. La détection d'ADN amplifié (amplicon) est effectuée lors du thermocyclage à l'aide de sondes oligonucléotidiques marquées par quatre fluorophores différents. Le signal amplifié de douze types de HPV à haut risque (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68) est détecté à l'aide du même fluorophore, tandis que les signaux de HPV16, HPV18 et de β -globine sont respectivement détectés à l'aide d'un fluorophore qui leur est propre.

Préparation des échantillons

La préparation des échantillons pour le test **cobas**[®] 4800 HPV est automatisée grâce au **cobas**[®] x 480 instrument. Les échantillons cervicaux recueillis dans le milieu Roche Cell Collection Medium, dans la solution PreservCyt[®] ou dans le liquide de préservation SurePath[™] sont digérés en conditions dénaturantes à des températures élevées, puis lysés en présence de réactif chaotrope. Les acides nucléiques de HPV libérés, ainsi que l'ADN de β -globine servant au contrôle du processus, sont purifiés par absorption vers des particules de verre magnétiques, lavés puis séparés de ces particules afin de les préparer à l'amplification et à la détection par PCR.

Amplification par PCR

Choix de la cible

Le test **cobas**[®] 4800 HPV utilise des amorces pour définir une séquence d'environ 200 nucléotides dans la région L1 polymorphe du génome du HPV. Une masse commune d'amorces du HPV présente dans le Master Mix est conçue pour amplifier l'ADN de HPV à partir de 14 types de HPV à haut risque (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68)^{3,8-13,25}. Les sondes oligonucléotidiques fluorescentes se lient aux régions polymorphes dans la séquence définie par ces amorces.

Une paire supplémentaire d'amorces et une sonde ciblent le gène β -globine humain (amplicon de 330 bp) afin d'assurer un contrôle du processus.

Amplification de la cible

De l'ADN polymérase EagleZ05²⁶, une version chimiquement modifiée de l'ADN polymérase Z05 *Thermus species*²⁷, est utilisée pour l'amplification avec « démarrage à chaud » des cibles de HPV et du contrôle de β -globine. Tout d'abord, le mélange réactionnel de PCR est chauffé afin d'activer l'ADN polymérase EagleZ05 et de dénaturer l'ADN viral et l'ADN génomique et pour exposer les séquences cibles des amorces. Au fur et à mesure que le mélange se refroidit, les amorces en amont et en aval s'apparient aux séquences d'ADN cible. L'ADN polymérase EagleZ05 en présence d'ion métallique divalent et de dNTP en excès allonge la ou les amorces et un deuxième brin d'ADN est synthétisé. Le premier cycle de PCR est ainsi achevé et une copie d'ADN double-brin de la région cible du génome de HPV et du gène de β -globine est ainsi produite. L'ADN polymérase allonge les amorces hybridées le long des modèles cibles pour produire une molécule d'ADN cible de HPV double-brin d'environ 200 paires de base ou une molécule d'ADN de β -globine de 330 paires de base désignée comme amplicon. Ce procédé est répété pendant un certain nombre de cycles, chaque cycle doublant effectivement le nombre d'ADN d'amplicon. L'amplification n'a lieu que dans la région du génome de HPV et/ou du gène β -globine entre la paire d'amorces appropriée. Le génome complet n'est pas amplifié.

Détection automatisée en temps réel

Le test **cobas**[®] 4800 HPV utilise la technologie de ^{29,30} PCR en temps réel. Chaque sonde oligonucléotidique de la réaction est marquée par un fluorophore servant de rapporteur et par un quencher qui neutralise les émissions fluorescentes du fluorophore dans une sonde intacte. À mesure que l'amplification progresse, les sondes qui sont complémentaires de l'amplicon se lient à des séquences d'ADN simple-brin spécifique et sont clivées par l'activité nucléase 5' à 3' de l'ADN polymérase EagleZ05. Une fois que le fluorophore servant de rapporteur est séparé du quencher par son activité nucléase, il émet une fluorescence d'une longueur d'onde caractéristique lorsqu'il est excité par un spectre de lumière approprié. Cette longueur d'onde caractéristique pour chaque fluorophore permet la mesure indépendante de l'amplicon de HPV16, de l'amplicon de HPV18 et d'autres amplicons HR (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68), ainsi que du contrôle de β -globine car les sondes spécifiques à ces séquences sont marquées par différents fluorophores.

Amplification sélective

L'amplification sélective des acides nucléiques cibles à partir des échantillons cliniques est réalisée avec le test **cobas**[®] 4800 HPV à l'aide de l'enzyme AmpErase (uracil-N-glycosylase) et du désoxyuridine triphosphate (dUTP). L'enzyme AmpErase reconnaît et catalyse la destruction des brins d'ADN contenant de la désoxyuridine²⁸, mais pas de l'ADN contenant de la désoxythymidine. L'ADN naturel ne contient pas de désoxyuridine mais les amplicons en contiennent toujours du fait que l'un des dNTP du mélange réactionnel, la désoxyuridine triphosphate, remplace la thymidine triphosphate ; c'est pourquoi seuls les amplicons renferment de la désoxyuridine. La désoxyuridine rend l'amplicon contaminant susceptible d'être détruit par l'enzyme AmpErase avant l'amplification de l'ADN cible. L'enzyme AmpErase, comprise dans le réactif Master Mix, catalyse le clivage de l'ADN contenant de la désoxyuridine au niveau des résidus de désoxyuridine en ouvrant la chaîne de désoxyribose à la position C1. Lorsqu'elle est chauffée au cours de la première étape du thermocyclage, la chaîne d'ADN de l'amplicon se casse au niveau de la désoxyuridine, ce qui rend l'ADN non amplifiable. L'enzyme AmpErase est inactive à des températures supérieures à 55 °C, c'est-à-dire lors des étapes de thermocyclage, et ne détruit donc pas l'amplicon cible. Il a été démontré que l'enzyme AmpErase du test **cobas**[®] 4800 HPV désactive au moins 10³ copies de l'amplicon de HPV contenant de la désoxyuridine par PCR.

RÉACTIFS

cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (c4800 SMPL PREP) 240 tests (P/N: 05235782190)			
Composants du kit	Ingrédients du réactif	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements ^a
MGP (Particules magnétiques de verre du système cobas® 4800)	Particules magnétiques de verre 93 % d'isopropanol ^b	10 × 4,5 mL	 DANGER H225 : Liquide et vapeurs très inflammables. H319 : Provoque une sévère irritation des yeux. H336 : Peut provoquer somnolence ou vertiges. P210 : Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer. P233 : Maintenir le récipient fermé de manière étanche. P261 : Éviter de respirer les brouillards ou vapeurs. P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/ un équipement de protection des yeux/du visage/un équipement de protection auditive. P303 + P361 + P353 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau/se doucher. P370 + P378 : En cas d'incendie : utiliser du sable sec, de la poudre chimique sèche ou de la mousse résistant à l'alcool pour l'extinction. 67-63-0 Propan-2-ol
EB (Tampon d'élution du système cobas® 4800)	Tampon Tris 0,09 % d'azoture de sodium	10 × 18 mL	N/A

^a Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

^b Substance dangereuse.

cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (c4800 SMPL PREP) 960 tests (P/N: 05235804190)			
Composants du kit	Ingrédients du réactif	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements ^a
MGP (Particules magnétiques de verre du système cobas® 4800)	Particules magnétiques de verre 93 % d'isopropanol ^b	10 × 13,5 mL	 DANGER H225 : Liquide et vapeurs très inflammables. H319 : Provoque une sévère irritation des yeux. H336 : Peut provoquer somnolence ou vertiges. P210 : Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer. P233 : Maintenir le récipient fermé de manière étanche. P261 : Éviter de respirer les brouillards ou vapeurs. P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/ un équipement de protection des yeux/du visage/un équipement de protection auditive. P303 + P361 + P353 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau. P370 + P378 : En cas d'incendie : utiliser du sable sec, de la poudre chimique sèche ou de la mousse résistant à l'alcool pour l'extinction. 67-63-0 Propan-2-ol
EB (Tampon d'élution du système cobas® 4800)	Tampon Tris 0,09 % d'azoture de sodium	10 × 18 mL	N/A

^a Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

^b Substance dangereuse.

cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (c4800 WB) 240 tests (P/N: 05235863190)			
Composants du kit	Ingrédients du réactif	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements ^a
WB (Tampon de lavage du cobas® 4800 System)	Citrate de sodium dihydraté 0,05 % de N-méthylisothiazolone-HCl ^b	10 × 55 mL	 AVERTISSEMENT H317 : Peut provoquer une allergie cutanée. P261 : Éviter de respirer les brouillards ou vapeurs. P272 : Les vêtements de travail contaminés ne doivent pas sortir du lieu de travail. P280 : Porter des gants de protection. P333 + P313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. P362 + P364 : Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation. P501 : Éliminer le contenu/récipient dans une installation d'élimination des déchets agréée. 26172-54-3 Chlorhydrate de 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one.

^a Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

^b Substance dangereuse.

cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (c4800 WB) 960 tests (P/N: 05235871190)			
Composants du kit	Ingrédients du réactif	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements ^a
WB (Tampon de lavage du cobas® 4800 System)	Citrate de sodium dihydraté 0,05 % de N-méthylisothiazolone-HCl ^b	10 × 200 mL	 AVERTISSEMENT H317 : Peut provoquer une allergie cutanée. P261 : Éviter de respirer les brouillards ou vapeurs. P272 : Les vêtements de travail contaminés ne doivent pas sortir du lieu de travail. P280 : Porter des gants de protection. P333 + P313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. P362 + P364 : Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation. P501 : Éliminer le contenu/récipient dans une installation d'élimination des déchets agréée. 26172-54-3 Chlorhydrate de 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one.

^a Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

^b Substance dangereuse.

cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit (c4800 LIQ CYT)
240 tests (P/N: 05235812190)

Composants du kit	Ingrédients du réactif	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements ^a
PK (Protéinase K du système cobas® 4800)	Tampon Tris < 0,05 % d'EDTA Chlorure de calcium Acétate de calcium Glycérol < 2 % de protéinase K ^b	10 × 0,9 mL	 DANGER H317 : Peut provoquer une allergie cutanée. H334 : Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation. P261 : Éviter de respirer les brouillards ou vapeurs. P280 : Porter des gants de protection. P284 : Porter un équipement de protection respiratoire. P304 + P340 : EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. P333 + P313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. P342 + P311 : En cas de symptômes respiratoires : appeler un CENTRE ANTIPOISON/un médecin. 39450-01-6 Protéinase, sérine, <i>Tritirachium album</i>
SDS (Réactif SDS du système cobas® 4800)	Tampon Tris 0,2 % SDS 0,09 % d'azote de sodium	10 × 3 mL	s.o.
LYS (Tampon de lyse du système cobas® 4800)	Tampon Tris 37 % (m/m) de guanidine HCl ^b < 5 % de polidocanol ^b	10 × 10 mL	 DANGER H302 : Nocif en cas d'ingestion. H315 : Provoque une irritation cutanée. H318 : provoque des lésions oculaires graves. P264 : Se laver soigneusement les mains après manipulation. P270 : Ne pas manger, boire ou fumer en manipulant ce produit. P280 : Porter des gants de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. P301 + P312 + P330 : EN CAS D'INGESTION : appeler un CENTRE ANTIPOISON/un médecin en cas de malaise. rincer la bouche. P305 + P351 + P338 + P310 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin. P501 : Éliminer le contenu/réceptacle dans une installation d'élimination des déchets agréée. 50-01-1 Chlorure de guanidinium 9002-92-0 Polidocanol

^a Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

^b Substance dangereuse.

cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit (c4800 LIQ CYT)
960 tests (P/N: 05235839190)

Composants du kit	Ingrédients du réactif	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements ^a
PK (Protéinase K du système cobas® 4800)	Tampon Tris < 0,05 % d'EDTA Chlorure de calcium Acétate de calcium Glycérol < 2 % de protéinase K ^b	20 × 1,2 mL	 DANGER H317 : Peut provoquer une allergie cutanée. H334 : Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation. P261 : Éviter de respirer les brouillards ou vapeurs. P280 : Porter des gants de protection. P284 : Porter un équipement de protection respiratoire. P304 + P340 : EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. P333 + P313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. P342 + P311 : En cas de symptômes respiratoires : appeler un CENTRE ANTIPOISON/un médecin. 39450-01-6 Protéinase, sérine, <i>Tritirachium album</i>
SDS (Réactif SDS du système cobas® 4800)	Tampon Tris 0,2 % SDS 0,09 % d'azote de sodium	10 × 9 mL	s.o.
LYS (Tampon de lyse du système cobas® 4800)	Tampon Tris 37 % (m/m) de guanidine HCl ^b < 5 % de polidocanol ^b	10 × 36 mL	 DANGER H302 : Nocif en cas d'ingestion. H315 : Provoque une irritation cutanée. H318 : provoque des lésions oculaires graves. P264 : Se laver soigneusement les mains après manipulation. P270 : Ne pas manger, boire ou fumer en manipulant ce produit. P280 : Porter des gants de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. P301 + P312 + P330 : EN CAS D'INGESTION : appeler un CENTRE ANTIPOISON/un médecin en cas de malaise. rincer la bouche. P305 + P351 + P338 + P310 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin. P501 : Éliminer le contenu/récipient dans une installation d'élimination des déchets agréée. 50-01-1 Chlorure de guanidinium 9002-92-0 Polidocanol

^a Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

^b Substance dangereuse.

cobas® 4800 HPV Amplification/Detection Kit (c4800 HPV AMP/DET) 240 tests (P/N: 05235901190)			
Composants du kit	Ingrédients du réactif	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements
HPV MMX (Master mix du système cobas® 4800 HPV)	Tampon tricine Acétate de potassium Hydroxyde de potassium Glycérol < 0,13 % de dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01 % des amorces HPV d'amont et d'aval < 0,01 % d'amorces d'amont et d'aval de la β-globine < 0,01 % de sondes HPV marquées par fluorescence < 0,01 % de sondes de la β-globine marquées par fluorescence < 0,10 % d'ADN polymérase EagleZ05 (microbien) < 0,10 % d'enzyme (microbienne) AmpErase (uracile-N-glycosylase) 0,09 % d'azoture de sodium	10 × 0,5 mL	N/A
HPV Mg/Mn (Solution Mg/Mn du système cobas® 4800 HPV)	Acétate de magnésium Acétate de manganèse < 0,02 % d'acide acétique glacial 0,09 % d'azoture de sodium	10 × 1,0 mL	N/A

cobas® 4800 HPV Amplification/Detection Kit (c4800 HPV AMP/DET) 960 tests (P/N: 05235910190)			
Composants du kit	Ingrédients du réactif	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements
HPV MMX (Master mix du système cobas® 4800 HPV)	Tampon tricine Acétate de potassium Hydroxyde de potassium Glycérol < 0,13 % de dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01 % des amorces HPV d'amont et d'aval < 0,01 % d'amorces d'amont et d'aval de la β-globine < 0,01 % de sondes HPV marquées par fluorescence < 0,01 % de sondes de la β-globine marquées par fluorescence < 0,10 % d'ADN polymérase EagleZ05 (microbien) < 0,10 % d'enzyme (microbienne) AmpErase (uracile-N-glycosylase) 0,09 % d'azoture de sodium	20 × 1,0 mL	N/A
HPV Mg/Mn (Solution Mg/Mn du système cobas® 4800 HPV)	Acétate de magnésium Acétate de manganèse < 0,02 % d'acide acétique glacial 0,09 % d'azoture de sodium	10 × 1,0 mL	N/A

cobas® 4800 HPV Controls Kit (c4800 HPV CTLs) 10 sets (P/N : 05235855190)			
Composants du kit	Ingrédients du réactif	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements
HPV (+) C (Contrôle positif au HPV du système cobas® 4800)	Tampon Tris EDTA 0,05 % d'azoture de sodium < 0,00001 % d'ARN Poly rA (synthétique) < 0,00001 % d'ADN plasmidique non infectieux (microbien) contenant des séquences de HPV 16, 18, 39 < 0,00001 % d'ADN plasmidique non infectieux (microbien) contenant des séquences de β-globine humaine	10 × 0,5 mL	N/A
(-) C (Contrôle négatif du système cobas® 4800)	Tampon Tris EDTA 0,05 % d'azoture de sodium < 0,00001 % d'ARN Poly rA (synthétique)	10 × 0,5 mL	N/A

REMARQUE : les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

A. DESTINÉ AU DIAGNOSTIC *IN VITRO*.

- B. Les échantillons vaginaux auto-prélevés doivent être mis en suspension dans le milieu de prélèvement Roche Cell Collection Medium ou la solution PreservCyt® après le prélèvement de l'échantillon.
- C. Des résultats faussement négatifs ou invalides peuvent être obtenus avec des échantillons auto-prélevés si les échantillons ne sont pas mis en suspension dans le milieu après le prélèvement.
- D. Ne pas pipeter à la bouche.
- E. Ne pas manger, boire ou fumer dans les zones de travail du laboratoire. Porter des gants protecteurs jetables, des blouses de laboratoire et des protections pour les yeux lors de la manipulation des échantillons et des réactifs du kit. Bien se laver les mains après la manipulation des échantillons et des réactifs de test.
- F. Éviter toute contamination microbienne ou ADN des réactifs.
- G. Éliminer les réactifs inutilisés et les déchets conformément à la réglementation nationale et locale applicable.
- H. Ne pas utiliser les réactifs après leur date limite d'utilisation.
- I. Ne pas mélanger les réactifs.
- J. Les fiches de sécurité des produits (Material Safety Data Sheets, MSDS) sont disponibles sur demande auprès de votre distributeur local Roche.
- K. Il est indispensable de porter des gants et de les changer entre les manipulations d'échantillons et de réactifs de **cobas® 4800** afin d'éviter toute contamination.
- L. Les échantillons doivent être manipulés comme s'ils étaient infectieux en suivant les procédures de sécurité de laboratoire, telles que celles mentionnées dans *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*³¹ ainsi que dans le document M29-A3 du CLSI³².
- M. Le **LYS** contient du chlorhydrate de guanidine. **Éviter les contacts directs entre le chlorhydrate de guanidine et l'hypochlorite de sodium (eau de javel) ou d'autres produits hautement réactifs tels que les acides ou les basiques. Ces mélanges peuvent libérer un gaz nocif.** En cas de déversement de liquide contenant du chlorhydrate de guanidine, nettoyer avec du détergent de laboratoire adéquat et de l'eau. En cas de déversement de liquide contenant des agents potentiellement infectieux, nettoyer la zone affectée **D'ABORD** avec du détergent de laboratoire et de l'eau, puis avec de l'hypochlorite de sodium à 0,5 %.
- N. Les particules de verre magnétiques (**MGP**) contiennent de l'isopropanol et sont hautement inflammables. Maintenir à l'écart des flammes et d'environnements pouvant produire des étincelles.
- O. **EB, SDS, HPV MMX, HPV Mg/Mn, (-) C et HPV (+) C** contiennent de l'azoture de sodium. L'azoture de sodium peut réagir avec les conduits en plomb ou en cuivre pour former des azotures métalliques hautement explosifs. En cas d'élimination des solutions contenant de l'azoture de sodium dans les éviers du laboratoire, il convient de rincer la tuyauterie abondamment avec de l'eau froide afin d'éviter la formation d'azotures.
- P. Porter des gants de protection jetables, une blouse de laboratoire et des lunettes de protection lors de la manipulation des réactifs. Éviter tout contact de ces produits avec la peau, les yeux ou les muqueuses. En cas de contact, rincer immédiatement et abondamment à l'eau. Sans traitement, des brûlures peuvent être occasionnées. En cas de déversement de réactif, diluer avec de l'eau avant d'essuyer.
- Q. Tous les articles jetables sont à usage unique. Ne pas réutiliser.
- R. Ne pas utiliser de solution d'hypochlorite de sodium (eau de Javel) pour nettoyer le **cobas® x 480** instrument ou le **cobas® z 480** analyzer. Nettoyer le **cobas® x 480** instrument ou le **cobas® z 480** analyzer en suivant les procédures détaillées dans l'Assistance Utilisateur du **cobas® 4800** System.
- S. Pour plus d'informations sur les avertissements, précautions et procédures visant à réduire le risque de contamination pour le **cobas® x 480** instrument ou le **cobas® z 480** analyzer, consulter l'Assistance Utilisateur du **cobas® 4800** System.
- T. N'utilisez pas de réactifs ou de récipients présentant des dommages visibles ou des signes de fuite.
- U. Informez votre autorité locale compétente et votre fabricant responsable au sujet de tout incident grave pouvant survenir lors de l'utilisation de ce test.

CONDITIONS DE MANIPULATION ET DE STOCKAGE

A. *Ne pas congeler les réactifs.*

- B. Conserver les produits **MGP, EB, PK, SDS, LYS, HPV MMX, HPV Mg/Mn, HPV (+) C** et **(-) C** à une température comprise entre 2 et 8 °C. Ces réactifs restent stables jusqu'à la date de péremption indiquée.
- C. Conserver le réactif **WB** entre 15 et 25 °C. Ce réactif reste stable jusqu'à la date de péremption indiquée.

MATÉRIEL FOURNI

A. cobas® 4800 System Sample Preparation Kit Kit de préparation des échantillons du cobas® 4800 System (P/N : 05235782190)	c4800 SMPL PREP	240 tests
MGP (Particules de verre magnétique du cobas® 4800 System)		
EB (Tampon d'élution du cobas® 4800 System)		
B. cobas® 4800 System Sample Preparation Kit Kit de préparation des échantillons du cobas® 4800 System (P/N : 05235804190)	c4800 SMPL PREP	960 tests
MGP (Particules de verre magnétique du cobas® 4800 System)		
EB (Tampon d'élution du cobas® 4800 System)		
C. cobas® 4800 System Wash Buffer Kit Kit de tampons de lavage du cobas® 4800 System (P/N : 05235863190)	c4800 WB	240 tests
WB (Tampon de lavage du cobas® 4800 System)		
D. cobas® 4800 System Wash Buffer Kit Kit de tampons de lavage du cobas® 4800 System (P/N : 05235871190)	c4800 WB	960 tests
WB (Tampon de lavage du cobas® 4800 System)		
E. cobas® 4800 HPV Amplification/Detection Kit Kit d'amplification/détection de HPV du cobas® 4800 System (P/N : 05235901190)	c4800 HPV AMP/DET	240 tests
HPV MMX (Master mix de cobas® 4800 HPV)		
HPV Mg/Mn (Solution de Mg/Mn de cobas® 4800 HPV)		
F. cobas® 4800 HPV Amplification/Detection Kit Kit d'amplification/détection de HPV du cobas® 4800 System (P/N : 05235910190)	c4800 HPV AMP/DET	960 tests
HPV MMX (Master mix de cobas® 4800 HPV)		
HPV Mg/Mn (Solution de Mg/Mn de cobas® 4800 HPV)		
G. cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit Kit de préparation de cytologie liquide du cobas® 4800 System (P/N : 05235812190)	c4800 LIQ CYT	240 tests
PK (Protéinase K de cobas® 4800)		
SDS (Réactif SDS du cobas® 4800 System)		
LYS (Tampon de lyse du cobas® 4800 System)		

H. cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit
Kit de préparation de cytologie liquide du **cobas® 4800 System**
(P/N : 05235839190)

c4800 LIQ CYT

960 tests

PK
(Protéinase K de **cobas® 4800**)

SDS
(Réactif SDS du **cobas® 4800 System**)

LYS
(Tampon de lyse du **cobas® 4800 System**)

I. cobas® 4800 HPV Controls Kit
Kit de contrôles **cobas® 4800 HPV**
(P/N : 05235855190)

c4800 HPV CTLS

10 sets

HPV (+) C
(Contrôle positif au HPV de **cobas® 4800**)

(-) C
(Contrôle négatif du **cobas® 4800 System**)

AUTRE MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

Manipulation des échantillons et des réactifs

- Milieu Roche Cell Collection Medium (Roche P/N 07994745190, en option)
- Bouchons de remplacement pour milieu Roche Cell Collection Medium (Roche P/N 08037230190, en option)
- Brosse cervicale (Roche P/N 08399832190, en option)
- Brosse cervicale, stérile (Roche P/N 08779040190, en option)
- Écouvillons Copan FLOQSwab® destinés à l'auto-prélèvement vaginal, 552C.80 (Roche P/N 09032932190)
- Rovers Evalyn® Brush (Roche P/N 09032959190)
- Instructions de suspension d'échantillon pour écouvillons Copan FLOQSwabs® destinés à l'auto-prélèvement vaginal, 552C.80 (Roche P/N 09652671001)
- Instructions de suspension d'échantillon pour la Evalyn® Brush (Roche P/N 09907238001)
- Embouts CO-RE, 1000 µL, rack de 96 (Roche P/N 04639642001 ou Hamilton P/N 235905)
- Réservoir de réactifs 50 mL (Roche P/N 05232732001)
- Réservoir de réactifs 200 mL (Roche P/N 05232759001)
- Pour HPV ASAP v2.0.1, utiliser la plaque d'extraction (puits profonds) 1,6 mL du **cobas® 4800 System** (Roche P/N 05232716001)
- Pour HPV ASAP v2.1, utiliser la plaque d'extraction (puits profonds) 2,0 mL du **cobas® 4800 System** (Roche P/N 06884008001)
- Plaque AD (à micropuits) de 0,3 mL et film d'étanchéité du **cobas® 4800 System** (Roche P/N 05232724001)
- Sac à déchets solide [Roche P/N 05530873001 (petit) ou 04691989001 (grand)]
- Dévidoir à déchets Hamilton STAR (Roche P/N 04639669001)
- Tubes 13 mL à base arrondie (Roche P/N 07958048190) à utiliser comme tubes d'échantillon secondaires
- Bouchons, couleur neutre (Roche P/N 07958056190 ; pour reboucher les échantillons après le run dans les tubes de 13 mL à base arrondie)
- Gants jetables, non poudrés

Appareils et logiciel

- **cobas® x 480** instrument
- **cobas® z 480** analyzer
- Unité de contrôle du **cobas® 4800 System** avec logiciel du système version 2.2 ou supérieure
- Logiciel **cobas® HPV AP** version 2.0 ou supérieure pour le **cobas® 4800 System**

Équipement et matériel optionnel

- Tampon de préparation d'échantillon **cobas®** (Roche P/N 06526985190 ; détergent au tampon Tris)*
- Pipettes : capacité de 1000 µL
- Embouts à barrière aérosol exempts de DNase : capacité de 1000 µL
- Centrifugeuse équipée d'un rotor à godet mobile avec une FCR minimale de 1500
- Plaque aimantée autonome (Roche P/N 05440777001)
- Mélangeur Vortex (tube unique)
- Vortex multitube [par ex. VWR P/N 58816-116]
- Étiquettes à code-barres résistantes à la chaleur (RACO Industries ; n° de réf. RAC-225075-9501)
- Thermomètre -20/150 °C (VWR n° de réf. 89095-600) ou équivalent
- Bloc chauffant numérique 120 V (VWR n° de réf. 75838-294) ou équivalent
- Module bloc chauffant 12 trous 16 mm (VWR n° de réf. 13259-162) ou équivalent

*Un flacon ouvert de **cobas®** Sample Prep Buffer (CSPB) peut être stocké à température ambiante (15-30 °C) pendant 21 jours maximum et peut être utilisé séparément jusqu'à 4 fois pour le traitement pré-analytique des échantillons SurePath™.

PRÉLÈVEMENT, TRANSPORT ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

REMARQUE : *manipuler tous les échantillons comme s'ils pouvaient tous potentiellement transmettre des agents infectieux.*

A. Prélèvement des échantillons

Les échantillons cervicaux recueillis dans le milieu de prélèvement Roche Cell Collection Medium, la solution PreservCyt® ou le liquide de conservation SurePath™ ont été validés pour être utilisés avec le test **cobas**® 4800 HPV.

Les échantillons vaginaux prélevés avec des écouvillons FLOQSwab® destinés à l'auto-prélèvement vaginal et mis en suspension dans le milieu de prélèvement Roche Cell Collection Medium et la solution PreservCyt® ont été validés pour être utilisés avec le test **cobas**® 4800 HPV.

Les échantillons vaginaux prélevés avec la Evalyn® Brush et mis en suspension dans le milieu de prélèvement Roche Cell Collection Medium et la solution PreservCyt® ont été validés pour être utilisés avec le test **cobas**® 4800 HPV.

Suivre les instructions du fabricant pour le prélèvement des échantillons.

B. Transport des échantillons

Les échantillons recueillis dans le milieu de prélèvement Roche Cell Collection Medium, la solution PreservCyt® et le liquide de conservation SurePath™ peuvent être transportés à une température comprise entre 2 et 30 °C. Le transport des échantillons de HPV doit satisfaire aux normes locales, fédérales et nationales pour le transport d'agents étiologiques³³.

C. Conservation des échantillons

Les échantillons recueillis dans le milieu de prélèvement Roche Cell Collection Medium et la solution PreservCyt® peuvent être conservés jusqu'à 6 mois après la date de leur prélèvement, à une température comprise entre 2 et 30 °C. Les échantillons cervicaux recueillis dans le liquide de conservation SurePath™ peuvent être conservés entre 2 et 8 °C jusqu'à 6 mois et entre 15 et 30 °C jusqu'à 6 semaines après la date de leur prélèvement si les réticulations induites par la matrice dans le liquide de conservation SurePath™ sont inversées par traitement avec le tampon de préparation d'échantillon **cobas**® avant le test HPV.

INSTRUCTIONS D'UTILISATION

Instructions de suspension d'échantillon pour

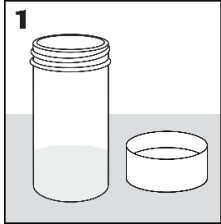
Écouillons Copan FLOQSwabs® destinés à l'auto-prélèvement vaginal (552C.80)

Instructions de manipulation d'échantillons auto-prélevés à l'aide d'écouvillons Copan FLOQSwabs® destinés à l'auto-prélèvement vaginal (552C.80) pour les tests **cobas**® 4800 HPV ou **cobas**® HPV.

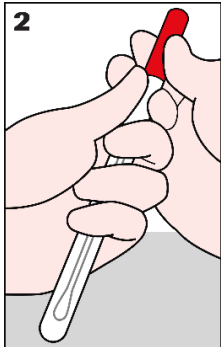
L'échantillon auto-prélevé doit être placé dans un milieu une fois l'échantillon prélevé.

- Lire toutes les instructions avant de commencer la suspension d'échantillon.
- Pour le prélèvement d'échantillons, suivre les instructions d'utilisation du fabricant du dispositif de prélèvement.
- Une fois l'échantillon prélevé, continuer avec les instructions suivantes pour préserver l'échantillon :

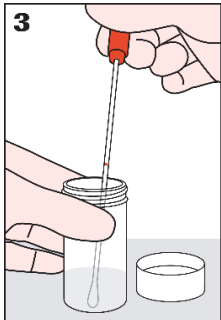
Manipuler l'échantillon prélevé avec soin.



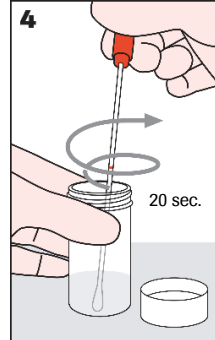
1. Déboucher **délicatement** le flacon contenant le milieu et le placer sur une surface plane et stable.



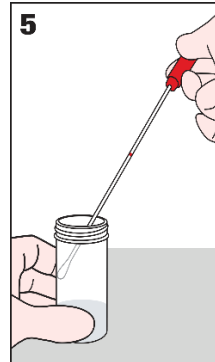
2. Retirer **lentement** le bouchon du FLOQSwab pour extraire l'écouvillon du tube. **Éviter de toucher les parois internes du tube lors du retrait du FLOQSwab.**



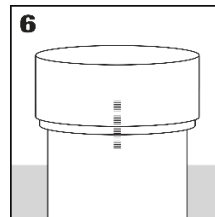
3. Tenir le flacon d'une main puis, de l'autre main, placer l'embout FLOQSwab dans le flacon jusqu'à ce que l'**embout FLOQSwab soit complètement immergé dans le milieu et touche le fond** du flacon.



4. En tenant le flacon, **tourner l'écouvillon FLOQSwab contre la paroi intérieure du flacon pendant 20 secondes** tout en vous **assurant que l'écouvillon reste immergé** dans le milieu. Veiller à ne pas éclabousser.



5. Tirer délicatement le FLOQSwab vers le haut le long de la paroi interne du flacon jusqu'à ce que l'embout ne soit plus immergé dans le milieu. **Maintenir l'embout contre la paroi intérieure du flacon pour drainer le liquide** de l'écouvillon. Placer l'écouvillon FLOQSwab dans le tube et le jeter.



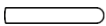
6. Refermer le flacon et le serrer jusqu'à ce que **les lignes du bouchon et du flacon se rejoignent ou se chevauchent légèrement** pour éviter les fuites. Conserver en position verticale.

7. L'échantillon peut maintenant être traité avec le test **cobas**® 4800 HPV ou **cobas**® HPV.

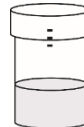
Glossaire



FLOQSwab/écouvillon : dispositif d'auto-prélèvement utilisé pour prélever l'échantillon.



Tube : récipient de protection dans lequel le dispositif d'auto-prélèvement est placé et pouvant être utilisé pour conserver temporairement le dispositif de prélèvement après le prélèvement de l'échantillon.



Flacon : récipient qui contient 20 mL de solution claire. L'échantillon que vous prélevez devra être transféré dans ce récipient qui sera envoyé au laboratoire pour être traité.

Milieu : nom du liquide se trouvant dans le flacon.

Instructions de suspension d'échantillon pour

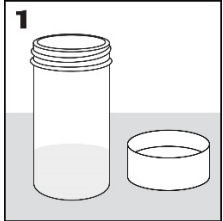
Rovers Evalyn® Brush

Instructions de manipulation d'échantillons auto-prélevés à l'aide de la Rovers Evalyn® Brush pour les tests **cobas®** 4800 HPV ou **cobas®** HPV.

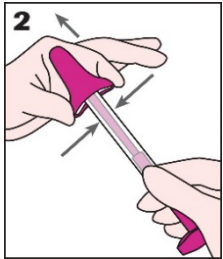
L'échantillon auto-prélevé doit être placé dans un milieu une fois l'échantillon prélevé.

- **Lire toutes les instructions avant de commencer la suspension d'échantillon.**
- Pour le prélèvement d'échantillons, suivre les instructions d'utilisation du fabricant du dispositif de prélèvement.
- Une fois l'échantillon prélevé, continuer avec les instructions suivantes pour préserver l'échantillon :

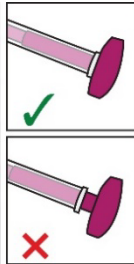
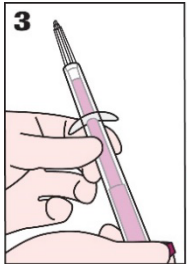
Manipuler l'échantillon prélevé avec soin.



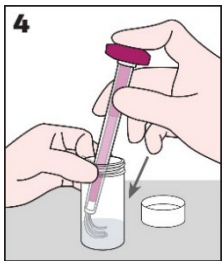
1. Déboucher **délicatement** le flacon contenant le milieu et le placer sur une surface plane et stable.



2. Retirer le bouchon rose de la Evalyn Brush **en prenant soin de ne pas toucher l'extrémité exposée.**



3. Appuyez sur le piston rose jusqu'à entendre un déclic pour faire sortir la brosse blanche. **Veillez à maintenir la brosse exposée de manière à ce qu'elle ne touche aucun objet** (par ex., doigts, surfaces).



4. Tenir le flacon d'une main puis, de l'autre main, placer la brosse blanche dans le flacon pour que les **poils soient complètement immergés dans le milieu et les ailettes dépassent l'ouverture du flacon.**



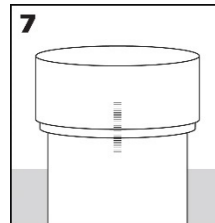
Répéter 10 fois



5. En maintenant le flacon, plonger vigoureusement la brosse, **en écrasant la brosse blanche contre le fond et la paroi intérieure du flacon 10 fois pour optimiser la libération d'échantillon.** Veiller à ne pas éclabousser.



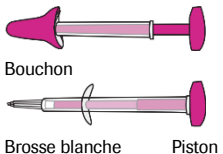
6. Retirer la brosse blanche en tirant délicatement la brosse vers le haut le long de la paroi interne du flacon primaire jusqu'à ce que la brosse ne soit plus immergée dans le milieu. **Maintenir la brosse contre la paroi intérieure du flacon pour drainer le liquide** de la brosse. Replacer la Evalyn Brush dans l'emballage et la jeter.



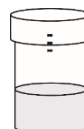
7. Refermer le flacon et le serrer jusqu'à ce que **les lignes du bouchon et du flacon se rejoignent ou se chevauchent légèrement** pour éviter les fuites. Conserver en position verticale.

8. L'échantillon peut maintenant être traité avec le test **cobas®** 4800 HPV ou **cobas®** HPV.

Glossaire



Evalyn Brush : dispositif d'auto-prélèvement utilisé pour prélever l'échantillon.



Flacon : récipient qui contient 20 mL de solution claire. L'échantillon que vous prélevez devra être transféré dans ce récipient qui sera envoyé au laboratoire pour être traité.

Milieu : nom du liquide se trouvant dans le flacon.

REMARQUE : à l'exception de HPV MMX et HPV Mg/Mn , tous les réactifs doivent être à température ambiante avant d'être chargés sur le cobas® x 480 instrument. Les réactifs HPV MMX et HPV Mg/Mn peuvent être sortis directement de leur emplacement de conservation compris entre 2 et 8 °C car ils s'équilibreront à la température ambiante une fois chargés sur le cobas® x 480 instrument avant d'être utilisés dans le processus.

REMARQUE : les échantillons dans le milieu Roche Cell Collection Medium, la solution PreservCyt® et le liquide de préservation SurePath™ doivent être à la température ambiante avant leur chargement sur le cobas® x 480 instrument.

REMARQUE : se référer à l'Assistance Utilisateur du cobas® 4800 System pour obtenir des instructions d'utilisation détaillées.

Taille des runs :

Le cobas® 4800 System est conçu pour prendre en charge le test cobas® 4800 HPV avec des formats de run de 1 à 94 échantillons plus les contrôles (jusqu'à 96 analyses par run). Chaque kit de préparation des échantillons du cobas® 4800 System, kit de préparation de cytologie liquide du cobas® 4800 System et kit de tampons de lavage du cobas® 4800 System contient des réactifs suffisants pour 10 runs de 24 tests (240 tests par kit) ou 96 tests (960 tests par kit). Chaque kit d'amplification/de détection cobas® 4800 HPV contient suffisamment de réactifs pour 10 runs de 24 tests (240 tests par kit) ou 96 tests (960 tests par kit); de multiples kits de 240 tests peuvent être utilisés pour optimiser l'utilisation des réactifs pour 48 ou 72 tests. Le kit de contrôles cobas® 4800 HPV contient suffisamment de réactifs pour un total de 10 runs (10 sets par kit). La taille minimale des runs sur le cobas® 4800 System est de 1 échantillon plus les contrôles. Un contrôle négatif du cobas® 4800 System [(-) C] et un contrôle positif cobas® 4800 HPV [HPV (+) C] sont nécessaires pour effectuer chaque run de test (voir la section « Contrôle qualité »).

Procédure de travail :

REMARQUE : bien qu'il ne s'agisse pas d'une utilisation optimale des réactifs, il est possible d'utiliser un kit de préparation des échantillons de 960 tests pour un run de 24 échantillons et un kit d'amplification/de détection de HPV de 960 tests pour un run de 24, 48 ou 72 échantillons.

Le test cobas® 4800 HPV peut être effectué en utilisant deux procédures, qu'on appelle « Full Workflow » (procédure de travail complète) ou « Recovery Workflow » (procédure de travail de restauration) dans le logiciel cobas® 4800.

HPV Full Workflow (procédure de travail complète HPV) :

La procédure « HPV Full Workflow » comprend la préparation des échantillons sur le cobas® x 480 instrument suivie de l'amplification/la détection sur le cobas® z 480 analyzer. La taille des runs doit être au format 24 tests (de 1 à 22 échantillons plus 2 contrôles) ou au format 96 tests (de 1 à 94 échantillons plus 2 contrôles Voir la section « Exécution d'une procédure de travail complète » ci-dessous ainsi que l'Assistance Utilisateur du cobas® 4800 System pour davantage de détails.

HPV Recovery Workflow (procédure de travail de restauration) :

La procédure « HPV Recovery Workflow » comprend l'installation manuelle de la plaque de PCR à partir de l'éluat de la plaque à puits profonds traitée suivie de l'amplification/la détection sur le cobas® z 480 analyzer. Voir la section « Exécution d'une procédure de travail de restauration » ci-dessous ainsi que l'Assistance Utilisateur du cobas® 4800 System pour davantage de détails.

Échantillons :

Les types d'échantillons suivants peuvent être soumis au test cobas® 4800 HPV :

- Échantillons cervicaux dans le milieu Roche Cell Collection Medium
- Échantillons cervicaux dans la solution PreservCyt®
- Échantillons cervicaux dans le liquide de conservation SurePath™ (voir la section « Traitement des échantillons primaires SurePath™ »)
- Échantillons vaginaux auto-prélevés à l'aide des écouvillons FLOQSwab® 552C.80 et mis en suspension dans le milieu Roche Cell Collection Medium
- Échantillons vaginaux auto-prélevés à l'aide des écouvillons FLOQSwab® 552C.80 et mis en suspension dans la solution PreservCyt®
- Échantillons vaginaux auto-prélevés à l'aide de la Evalyn® Brush et mis en suspension dans le milieu Roche Cell Collection Medium
- Échantillons vaginaux auto-prélevés à l'aide de la Evalyn® Brush et mis en suspension dans la solution PreservCyt®

Les échantillons recueillis dans le milieu Roche Cell Collection Medium et la solution PreservCyt® peuvent être traités directement depuis leur récipient primaire avec un code-barres correct ou depuis un tube de 13 mL à base arrondie avec code-barres approprié sur l'instrument cobas® x 480. Les échantillons SurePath™ doivent être transférés dans un tube de 13 mL à base arrondie avec code-barres approprié pour le traitement des échantillons (voir la section Traitement des échantillons primaires SurePath™) et le traitement sur l'instrument cobas® x 480. Consulter l'Assistance Utilisateur du cobas® 4800 System pour les procédures d'identification par code-barres et la liste des codes-barres acceptables dans le cobas® 4800 System.

REMARQUE : les échantillons SurePath™ doivent être traités avec le tampon de préparation d'échantillon cobas® afin d'inverser les réticulations induites par la matrice avant le test HPV sur le cobas® 4800 System.

Traitement des échantillons primaires SurePath™ avec le tampon de préparation des échantillons cobas® afin d'inverser les réticulations induites par la matrice

REMARQUE : des codes-barres résistants à la chaleur sont nécessaire pour les tubes utilisés pour l'inversion de la réticulation induite par la matrice (voir la section Équipement et matériel optionnels).

REMARQUE : il est recommandé que les étapes B, C, G et H présentées ci-dessous soient effectuées sous une hotte biologique pour réduire les risques d'une contamination croisée.

- Préparer un tube à base arrondie de 13 mL avec code-barres avec 0,5 mL de cobas® Sample Prep Buffer pour chaque échantillon SurePath™ à tester.

Un flacon ouvert de cobas® Sample Prep Buffer (CSPB) peut être stocké à température ambiante (15-30 °C) pendant 21 jours maximum et peut être utilisé séparément jusqu'à 4 fois pour le traitement pré-analytique des échantillons SurePath™.

- Passez les échantillons SurePath™ au vortex pendant 10 secondes avant le transfert. Transférez 0,5 mL de chaque échantillon SurePath™ dans un tube à base arrondie de 13 mL préparé à l'étape A. Refermez chaque tube avant de passer au suivant. Vous devez toujours changer les embouts de pipette pour chaque échantillon.

- C. Passez chaque tube au vortex pendant 1 seconde.
- D. Transférer les tubes dans l'unité de chauffage réglée sur 120 °C (voir la section Équipement et matériel optionnels). Il est possible de traiter jusqu'à 48 tubes par lot.
- E. Faire chauffer pendant 20 minutes.
- F. Une fois chauffés, retirez les tubes et placez-les dans un portoir, puis laissez-les refroidir à température ambiante pendant 10 minutes.
- G. Passez chaque tube au vortex pendant 5 secondes.
- H. Transférez les tubes dans des portoirs à échantillons **cobas**® 4800 à 24 positions, jetez les bouchons et effectuez le test HPV sur le **cobas**® 4800 System.

Les échantillons SurePath™ traités avec le tampon de préparation des échantillons **cobas**® peuvent être conservés pour un test HPV ultérieur, par exemple si l'évaluation cytologique doit être effectuée d'abord. La procédure suivante doit être suivie :

- A. Exécutez la procédure de traitement ci-dessus jusqu'à l'étape G.
- B. Vous pouvez conserver les tubes contenant les échantillons SurePath™ traités avec le tampon de préparation des échantillons **cobas**® entre 2 et 30 °C jusqu'à 4 semaines avant le test HPV sur le **cobas**® 4800 System.

REMARQUE : le volume minimum nécessaire dans les récipients primaires de milieu Roche Cell Collection Medium et de solution PreservCyt® est de 3,0 mL. Si des tubes secondaires de 13 mL à base arrondie sont utilisés, verser un volume minimum de 1,0 mL et un volume maximum de 10 mL.

REMARQUE : utiliser uniquement le milieu Roche Cell Collection Medium, la solution PreservCyt® et le liquide de préservation SurePath™ pour prélever des échantillons cervicaux pour le test **cobas**® 4800 HPV. Le test **cobas**® 4800 HPV n'a pas été validé pour une utilisation avec d'autres types de milieu. L'utilisation du test **cobas**® 4800 HPV avec d'autres types de milieu risque d'entraîner des faux négatifs, des faux positifs et/ou des résultats invalides.

REMARQUE : pour éviter toute contamination croisée des échantillons traités, des bouchons supplémentaires pour flacons (voir la section Matériel nécessaire mais non fourni), doivent être utilisés pour refermer les échantillons une fois traités. Refermer en serrant bien. Conserver et expédier les flacons en les maintenant à la verticale.

REMARQUE : il peut être nécessaire d'aliqoter des échantillons dans des tubes de 13 mL à base arrondie avec code-barres pour le traitement sur le **cobas**® x 480 instrument. Utiliser des pipeteurs avec embouts à barrière aérosol ou à déplacement positif pour manipuler les échantillons. Pour éviter toute contamination croisée des échantillons traités, des bouchons supplémentaires pour ces tubes, d'une autre couleur (neutre ; voir la section Matériel nécessaire mais non fourni), doivent être utilisés pour refermer les échantillons une fois traités.

REMARQUE : faire preuve de précaution lors du transfert d'échantillons de conteneurs primaires dans des tubes secondaires de 13 mL à base arrondie. Passer les échantillons primaires au vortex avant leur transfert. Changer les embouts de pipette pour chaque échantillon.

REMARQUE : ne pas traiter les échantillons semblant contenir du sang ou présentant une couleur marron foncé.

Un run unique peut contenir toute combinaison d'échantillons (milieu Roche Cell Collection Medium, solution PreservCyt® et/ou liquide de préservation SurePath™) et chaque échantillon peut être testé avec les sous-tests HPV High Risk ou HPV High Risk Plus Genotyping.

Procédures de travail

Exécution d'une procédure de travail complète :

- A. Le test **cobas**® 4800 HPV peut être utilisé pour des runs de 1 à 94 échantillons plus un contrôle négatif du **cobas**® 4800 System et un contrôle positif du **cobas**® 4800 HPV System.
- B. Procéder au démarrage du système et aux procédures de maintenance en suivant les instructions de l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System.
- C. Lancer un nouveau run en cliquant sur le bouton « New run ».
- D. Dans la fenêtre « Selection test », sélectionner le type de procédure de travail « Full » puis sélectionner le test « HPV ».
- E. Saisir un nom de run ou laisser le nom de run par défaut, puis cliquer sur « OK » pour continuer.
- F. Suivre l'assistant du logiciel pour charger les échantillons.

REMARQUE : les échantillons peuvent être chargés dans des tubes primaires ou secondaires avec code-barres dans n'importe quel ordre.

REMARQUE : si des récipients primaires pour les échantillons en milieu Roche Cell Collection Medium et en solution PreservCyt® sont utilisés pour le traitement, passer ces récipients au vortex avant de les charger.

- G. Sélectionner le type d'échantillon pour chaque échantillon.
 - Choisir « PC » pour commander des échantillons en milieu Roche Cell Collection Medium ou en solution PreservCyt®.
 - Choisir « SP » pour commander des échantillons en liquide de préservation SurePath™.

REMARQUE : les demandes de tests peuvent être annotées pour identifier les échantillons auto-prélevés à l'aide du logiciel de l'instrument et les utilisateurs sont encouragés à le faire. Se référer à l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System pour obtenir des instructions sur l'annotation.

- H. Sélectionner le résultat demandé pour chaque échantillon.
 - Choisir le résultat demandé « HPV High Risk Panel » pour signaler les résultats de test qui présentent un type ou une combinaison de HPV à haut risque de types : 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.
 - Choisir le résultat demandé « HPV High Risk Panel Plus Genotyping » pour signaler les résultats de test qui présentent un type ou une combinaison de HPV à haut risque de types : 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 et pour signaler séparément les résultats de test qui présentent le HPV à haut risque de type 16 et celui de type 18.

I. Suivre l'assistant du logiciel pour charger tous les consommables.

J. Suivre l'assistant du logiciel pour charger tous les réactifs.

REMARQUE : les contrôles [HPV (+) C et (-) C] ne sont pas chargés avec les échantillons. Ils sont chargés sur le portoir de réactifs au cours du chargement des réactifs. Deux positions (A1 et B1) sont réservées sur chacune des plaques d'extraction et plaques à micropuits pour les contrôles HPV (+) et (-), respectivement.

REMARQUE : le cobas® 4800 System possède une horloge interne pour surveiller la durée des réactifs sur le système. Une fois que le tampon de lavage est scanné, une heure est autorisée pour terminer le processus de chargement et cliquer sur le bouton « Start ». Un compte à rebours s'affiche dans l'onglet « Workplace ». Le système n'autorisera pas le run à démarrer si le temps sur le système a expiré.

REMARQUE : pour garantir un transfert correct de MGP, passer au vortex ou agiter vigoureusement le flacon de MGP avant de le verser dans le réservoir de réactif.

K. Charger les réactifs de préparation des échantillons (WB, MGP, EB, SDS et LYS) dans les réservoirs de réactifs à code-barres en utilisant la méthode « double-scan-versement-mise en place » :

- Scanner le code-barres de la bouteille de réactif
- Scanner le code-barres du réservoir de réactif
- Verser le réactif dans le réservoir
- Placer le réservoir de réactif rempli dans la position correspondante du portoir de réactifs

L. Les réservoirs de réactifs sont disponibles en deux tailles : 200 mL et 50 mL. Suivre l'assistant du logiciel pour sélectionner les tailles correspondantes du réservoir de réactif. Les codes-barres du réservoir de réactif doivent être alignés à droite du portoir.

REMARQUE : les réactifs d'amplification/détection (HPV MMX et HPV Mg/Mn), les contrôles [HPV (+) C et (-) C] et la PK sont chargés directement sur le portoir de réactifs et scannés par le cobas® x 480 instrument automatiquement.

REMARQUE : tous les réactifs et réservoirs de réactifs sont munis de codes-barres et sont destinés à un usage unique. Le logiciel cobas® 4800 suit l'utilisation des réactifs et des réservoirs de réactif et rejette les réactifs ou réservoirs de réactif précédemment utilisés. Le logiciel vérifie également qu'un nombre suffisant de réactifs est chargé sur l'instrument.

REMARQUE : le logiciel du cobas® 4800 surveille la date de péremption de tous les réactifs. Les réactifs dont la date de péremption est dépassée ne seront pas utilisés sur le cobas® 4800 System.

M. Démarrer la préparation des échantillons en cliquant sur « Start Run ».

N. Une fois la préparation des échantillons effectuée, cliquez sur « Unload » pour décharger le portoir de plaques.

** Il est possible d'afficher l'état de la préparation des échantillons à ce niveau, avant de cliquer sur « Unload ». Voir l'Assistance Utilisateur du cobas® 4800 System.

O. Suivre les instructions de l'Assistance Utilisateur du cobas® 4800 System pour sceller la plaque à micropuits, transporter la plaque vers le cobas® z 480 analyzer et démarrer le run d'amplification et de détection.

REMARQUE : le cobas® 4800 System possède une horloge interne pour surveiller le temps écoulé après l'ajout des échantillons préparés dans le master mix de travail. L'amplification et la détection doivent être démarrées le plus tôt possible mais pas plus tard que 90 minutes après la fin du run de le cobas® x 480 instrument. Un compte à rebours s'affiche dans l'onglet « Workplace ».

P. Une fois le run d'amplification et de détection effectué, décharger la plaque à micropuits du cobas® z 480 analyzer.

Q. Suivre les instructions de l'Assistance Utilisateur du cobas® 4800 System pour consulter et accepter les résultats.

Exécution d'une procédure de travail de restauration

REMARQUE : la procédure de travail de restauration est disponible comme option de restauration si la procédure de travail complète ne peut être effectuée pour des raisons indépendantes de la volonté de l'utilisateur (par exemple, panne de courant lors du run d'amplification/de détection).

REMARQUE : seuls les échantillons traités correctement sur le cobas® x 480 instrument peuvent être amplifiés/déTECTÉS à l'aide du run de restauration. La surveillance du système pour les réactifs et les consommables est limitée au cours du run de restauration. Aucun suivi de position d'échantillon n'est possible avec la procédure de travail de restauration : l'utilisateur final doit s'assurer que la position d'un échantillon sur la plaque à micropuits correspond à celle figurant dans le fichier d'ordre de travail de rapport de disposition de plaque de restauration. Une attention extrême doit être apportée à la préparation de la plaque à micropuits afin de garantir une installation PCR correcte et éviter toute contamination.

REMARQUE : les échantillons traités sur le cobas® x 480 instrument ont une stabilité limitée. Ils doivent être amplifiés/déTECTÉS à l'aide de la procédure de travail de restauration au cours des 24 heures s'ils sont stockés entre 2 °C et 30 °C.

A. Lancer un run de restauration en cliquant sur le bouton « New run ».

B. Dans la fenêtre « Test Selection », sélectionner le type de procédure de travail « Recovery » puis sélectionner le type de test « HPV ».

C. Saisir un nom de run ou laisser le nom de run par défaut, puis cliquer sur « OK » pour continuer.

D. Sélectionner un run à restaurer.

E. En cas d'utilisation de HPV ASAP v2.1, numériser l'ID de plaque à puits profonds original à partir de la procédure de travail complète.

F. Saisir l'identifiant de la nouvelle plaque à micropuits.

G. Saisir les identifiants de mélange réactionnel et d'ions métalliques pour tous les flacons de réactifs d'amplification/de détection dans le kit.

H. Préparer le Master Mix de travail cobas® 4800 HPV :

1. Pour un kit de 240 tests, ajouter 240 µL de HPV Mg/Mn à un flacon de HPV MMX (flacon de 0,5 mL du kit de 240 tests).

2. Pour un kit de 960 tests, ajouter 450 µL de **HPV Mg/Mn** à chacun des deux flacons de **HPV MMX** (flacons de 1,0 mL du kit de 960 tests).

REMARQUE : le run de restauration doit être démarré dans les 90 minutes suivant l'ajout de HPV Mg/Mn au HPV MMX. Le système ne contrôle pas le temps écoulé après l'ajout des échantillons préparés au mélange réactionnel de travail pendant la procédure de travail de restauration. L'utilisateur final doit s'assurer que l'amplification et la détection démarrent dans le temps imparti.

- I. Bien mélanger le Master mix de travail en retournant le(s) flacon(s) avec précaution. Ne pas passer le Master Mix de travail au vortex.
- J. Transférer 25 µL de Master Mix de travail dans les puits correspondants de la plaque à micropuits.
- K. Placer la plaque d'extraction du run à répéter sur la plaque aimantée autonome.
- L. Transférer manuellement 25 µL d'éluat des puits de la plaque d'extraction vers les puits correspondants de la plaque à micropuits. S'assurer que les positions des puits soient conservées (par ex., l'éluat du puits A1 de la plaque d'extraction est transféré vers le puits A1 de la plaque à micropuits). Veiller à ce qu'aucun MGP ne soit transféré vers la plaque à micropuits.
- M. Suivre les instructions de l'Assistance Utilisateur du **cobas® 4800 System** pour sceller la plaque à micropuits.
- N. Passer la plaque à micropuits à la centrifugeuse en utilisant un rotor à godet mobile pendant au moins 5 secondes à 1500 FCR.
- O. Transporter la plaque vers le **cobas® z 480 analyzer** et démarrer le run d'amplification et de détection.
- P. Une fois le run d'amplification et de détection effectué, décharger la plaque à micropuits du **cobas® z 480 analyzer**.
- Q. Suivre les instructions de l'Assistance Utilisateur du **cobas® 4800 System** pour consulter et accepter les résultats.

Interprétation des résultats

REMARQUE : l'ensemble des validations d'analyses et de runs est effectué par le logiciel cobas® 4800.

REMARQUE : un run valide peut comporter des résultats d'échantillon valides et invalides.

Pour un run valide, les résultats d'échantillon sont interprétés comme illustré dans les tableaux 1 et 2 :

Tableau 1
Interprétation des résultats du test cobas® 4800 HPV concernant la présence d'ADN de HPV

cobas® 4800 HPV Test	Rapport et interprétation des résultats
Résultat de requête « HPV High Risk Panel » :	
POS HR HPV	Positif au HPV à haut risque L'échantillon est positif pour l'ADN d'un ou plusieurs des types de HPV à haut risque suivants : 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.
NEG HR HPV	Négatif au HPV à haut risque* L'ADN des types de HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68 est indétectable ou présent en quantité inférieure au seuil prédéfini.
Invalid HR HPV	HPV à haut risque invalide Les résultats pour le HPV HR sont invalides. Pour les échantillons PreservCyt®, l'échantillon initial doit être retesté deux fois maximum pour obtenir des résultats valides. Si les résultats sont toujours invalides, un nouvel échantillon doit être obtenu. Pour les échantillons SurePath™, l'échantillon initial doit être retesté s'il reste un volume suffisant. Si les résultats sont toujours invalides, un nouvel échantillon doit être obtenu.
Failed	Aucun résultat pour l'échantillon Consulter l'Assistance Utilisateur du cobas® 4800 System pour obtenir des instructions relatives aux messages de run et aux actions recommandées. L'échantillon initial doit être retesté pour obtenir des résultats valides.
Résultat de requête « HPV High Risk Panel Plus Genotyping » :	
POS Other HR HPV	Autre positif au HPV à haut risque L'échantillon est positif pour l'ADN d'un ou plusieurs des types de HPV à haut risque suivants : 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.
NEG Other HR HPV	Autre négatif au HPV à haut risque* L'ADN des types de HPV 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68 est indétectable ou présent en quantité inférieure au seuil prédéfini.
Invalid Other HR HPV	Autre HPV à haut risque invalide Le résultat pour les autres types de HPV HR est invalide. Pour les échantillons PreservCyt®, l'échantillon initial doit être retesté deux fois maximum pour obtenir des résultats valides. Si les résultats sont toujours invalides, un nouvel échantillon doit être obtenu. Pour les échantillons SurePath™, l'échantillon initial doit être retesté s'il reste un volume suffisant. Si les résultats sont toujours invalides, un nouvel échantillon doit être obtenu.
POS HPV16	Positif au HPV 16 L'échantillon est positif pour l'ADN de HPV de type 16.
NEG HPV16	Négatif au HPV 16* L'ADN de HPV de type 16 est indétectable ou en quantité inférieure au seuil prédéfini.
Invalid HPV16	HPV 16 invalide Le résultat pour le HPV de type 16 est invalide. Pour les échantillons PreservCyt®, l'échantillon initial doit être retesté deux fois maximum pour obtenir des résultats valides. Si les résultats sont toujours invalides, un nouvel échantillon doit être obtenu. Pour les échantillons SurePath™, l'échantillon initial doit être retesté s'il reste un volume suffisant. Si les résultats sont toujours invalides, un nouvel échantillon doit être obtenu.

cobas® 4800 HPV Test	Rapport et interprétation des résultats
POS HPV18	Positif au HPV 18 L'échantillon est positif pour l'ADN de HPV de type 18.
NEG HPV18	Négatif au HPV 18* L'ADN de HPV de type 18 est indétectable ou en quantité inférieure au seuil prédéfini.
Invalid HPV18	HPV 18 invalide Le résultat pour le HPV de type 18 est invalide. Pour les échantillons PreservCyt®, l'échantillon initial doit être retesté deux fois maximum pour obtenir des résultats valides. Si les résultats sont toujours invalides, un nouvel échantillon doit être obtenu. Pour les échantillons SurePath™, l'échantillon initial doit être retesté s'il reste un volume suffisant. Si les résultats sont toujours invalides, un nouvel échantillon doit être obtenu.
Failed	Aucun résultat pour l'échantillon Consulter l'Assistance Utilisateur du cobas® 4800 System pour obtenir des instructions relatives aux messages de run et aux actions recommandées. L'échantillon initial doit être retesté pour obtenir des résultats valides.

* Un résultat négatif n'exclut pas la présence d'une infection au HPV car les résultats dépendent d'un prélèvement adéquat des échantillons, de l'absence d'inhibiteurs, et d'une quantité suffisante d'ADN à détecter.

Tableau 2
Interprétation des résultats du test cobas® 4800 HPV pour les patients atteints d'anomalies cytologiques

Résultats	Interprétation
NEG Other HR HPV*, NEG HPV16, NEG HPV18	Probabilité très faible de présence de $\geq$ CIN2 sous-jacente.
POS Other HR HPV*, NEG HPV16, NEG HPV18	Probabilité accrue de détection de $\geq$ CIN2 sous-jacente lors de la colposcopie.
POS HPV16 et/ou POS HPV18	Probabilité très élevée de détection de $\geq$ CIN2 sous-jacente lors de la colposcopie ^{34,35} .

*L'ADN de HPV à haut risque comprend les types suivants : 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

REMARQUE : les résultats HPV négatif ne sont pas destinés à empêcher les femmes de subir une colposcopie.

REMARQUE : outre les résultats présentés dans les tableaux ci-dessus, des résultats invalides pour une ou plusieurs combinaisons sont également possibles. Exemple de résultat invalide :

Other HR HPV NEG, HPV16 POS, HPV18 Invalid

Les résultats positifs et négatifs doivent être interprétés comme illustré dans le tableau 1. Dans cet exemple, les résultats de HPV 18 sont invalides. L'échantillon initial doit être retesté deux fois maximum pour obtenir des résultats valides. Si les résultats sont toujours invalides, un nouvel échantillon doit être obtenu.

REMARQUE : les résultats négatifs indiquent des concentrations d'ADN de HPV indétectables ou en quantité inférieure au seuil prédéfini.

REMARQUE : les résultats de test positifs indiquent la présence d'un ou plusieurs des types à haut risque. Cependant, comme il est fréquent qu'un patient soit co-infecté avec des types à risque faible, les résultats positifs n'excluent pas la présence de types à risque faible chez les patients présentant des infections mixtes.

REMARQUE : les résultats de ce test ne doivent être interprétés qu'en association avec les informations disponibles provenant de l'évaluation clinique du patient et les informations concernant les antécédents du patient.

LISTE DES MESSAGES DE RÉSULTATS

Le tableau suivant répertorie les messages les plus courants du test **cobas**[®] 4800 HPV utiles à l'interprétation des résultats. Se référer à l'Assistance Utilisateur du **cobas**[®] 4800 System pour obtenir une liste complète des messages.

Tableau 3
Liste de messages pour le test cobas[®] 4800 HPV

Code de message	Description	Action recommandée
R20	Le contrôle positif est invalide.	Les valeurs du contrôle positif étaient invalides. 1. Répéter l'ensemble du run avec de nouveaux réactifs. 2. Si le problème persiste, contacter le service Roche.
R21	Le contrôle négatif est invalide.	Les valeurs du contrôle négatif étaient invalides. Respecter les bonnes pratiques de laboratoires pour éviter une contamination croisée. 1. Répéter l'ensemble du run avec de nouveaux réactifs. 2. Si le problème persiste, contacter le service Roche.
X3	Erreur : Un caillot a été détecté. L'échantillon n'a pas été traité.	Assurez-vous que les échantillons ont été manipulés conformément à la description de la procédure de travail. 1. Vérifier la présence de caillots dans l'échantillon. 2. Réanalyser l'échantillon.
X4	Erreur : une erreur de pipetage s'est produite. L'échantillon n'a pas été traité.	Un volume d'échantillon insuffisant ou une erreur mécanique lors du pipetage est la raison la plus probable. 1. S'assurer que le volume d'échantillon est suffisant. 2. Vérifier que la plaque d'éjection des embouts est correctement placée. 3. Réanalyser l'échantillon.

CONTRÔLE QUALITÉ

Un set de contrôles positifs et négatifs pour le test **cobas**[®] 4800 HPV est inclus dans chaque run. Dans chaque run, des résultats valides doivent être obtenus à la fois pour le contrôle positif et pour le contrôle négatif afin que le logiciel **cobas**[®] 4800 affiche les résultats reportables du test **cobas**[®] 4800 HPV de ce run.

Contrôle positif

Le résultat du contrôle HPV (+) doit être valide (« Valid »). Si le contrôle HPV (+) produit régulièrement des résultats invalides, contactez votre bureau Roche local pour une assistance technique.

Contrôle négatif

Le résultat du contrôle (-) doit être valide (« Valid »). Si le contrôle (-) produit régulièrement des résultats invalides, contactez votre bureau Roche local pour une assistance technique.

PRÉCAUTIONS GÉNÉRALES

Comme pour toute procédure d'analyse, l'application des bonnes pratiques de laboratoire est essentielle au bon déroulement de ce test. Du fait de la sensibilité analytique élevée de ce test, il est indispensable d'éviter toute contamination des réactifs et des mélanges d'amplification.

LIMITES DU TEST

- Le test **cobas**[®] 4800 HPV détecte l'ADN des types à haut risque 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68. Ce test ne détecte pas l'ADN des HPV à faible risque (p. ex. 6, 11, 42, 43, 44) étant donné que l'analyse des types de HPV à faible risque n'est pas utile d'un point de vue clinique³⁶.
- Le test **cobas**[®] 4800 HPV pour la détection des types 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68 du virus du papillome humain n'est pas recommandé pour l'évaluation d'un abus sexuel suspecté.
- Les performances du test **cobas**[®] 4800 HPV n'ont pas été établies de manière appropriée pour les individus vaccinés contre le HPV³⁷.
- La prévalence de l'infection par le HPV au sein d'une population donnée peut influencer les résultats. Les valeurs prédictives positives diminuent lors du test sur des populations présentant une faible prévalence ou des individus ne présentant aucun risque d'infection.
- L'infection par le HPV n'est pas un indicateur de lésions cytologiques de HSIL ni de CIN de degré élevé sous-jacentes et ne signifie pas qu'une CIN2 ou 3 ou qu'un cancer vont se développer. La plupart des femmes avec un ou plusieurs types de HPV à haut risque ne développent pas de CIN2 ou 3 ni de cancer.
- Un résultat négatif au HPV à haut risque n'exclut pas la possibilité d'une lésion cytologique de HSIL future, de CIN2 ou 3 ou d'un cancer sous-jacents.

7. Tester uniquement le type d'échantillon indiqué. Le test **cobas**[®] 4800 HPV n'a été validé que pour une utilisation sur :
- Échantillons cervicaux prélevés dans le milieu Roche Cell Collection Medium
 - Échantillons cervicaux prélevés dans la solution PreservCyt[®]
 - Échantillons cervicaux prélevés dans le liquide de conservation SurePath[™]
 - Échantillons vaginaux prélevés avec des écouvillons FLOQSwab[®] 552C.80 et mis en suspension dans le milieu Roche Cell Collection Medium
 - Échantillons vaginaux prélevés avec des écouvillons FLOQSwab[®] 552C.80 et mis en suspension dans la solution PreservCyt[®]
 - Échantillons vaginaux prélevés à l'aide de la Evalyn[®] Brush et mis en suspension dans le milieu Roche Cell Collection Medium
 - Échantillons vaginaux prélevés à l'aide de la Evalyn[®] Brush et mis en suspension dans la solution PreservCyt[®]

Les performances des dosages n'ont pas été validées avec l'utilisation d'autres milieux de prélèvement et/ou dispositifs de prélèvement. L'utilisation d'autres milieux de prélèvement et/ou d'autres dispositifs de prélèvement risque d'entraîner des faux positifs, des faux négatifs ou des résultats invalides.

8. La détection du HPV à haut risque dépend du nombre de copies présentes dans l'échantillon et peut être affectée par les méthodes de collecte d'échantillons, les facteurs relatifs à la patiente, le stade de l'infection et la présence de substances interférentes.
9. L'amplification et la détection de la bêta-globine sont utilisées dans le test **cobas**[®] 4800 HPV pour différencier les échantillons négatifs au HPV de ceux ne présentant aucun signe de HPV en raison d'une masse cellulaire de l'échantillon trop faible. Tous les échantillons négatifs au HPV doivent présenter un signal de bêta-globine compris dans un intervalle prédéfini que le **cobas**[®] 4800 System identifie comme négatif valide.
10. Pour des résultats fiables, les échantillons doivent avoir été prélevés, transportés, conservés et traités de façon appropriée. Suivre les procédures indiquées dans la présente notice et dans l'Assistance Utilisateur du **cobas**[®] 4800 System.
11. L'ajout de l'enzyme AmpErase au Master Mix du **cobas**[®] 4800 HPV permet une amplification sélective de l'ADN cible. Cependant, il est nécessaire de respecter les bonnes pratiques de laboratoire et les procédures présentées dans cette notice afin d'éviter une contamination des réactifs.
12. L'utilisation de ce produit doit être limitée au personnel formé aux techniques de PCR et à l'utilisation du **cobas**[®] 4800 System.
13. Seuls le **cobas**[®] x 480 instrument et le **cobas**[®] z 480 analyzer ont été validés pour une utilisation avec ce produit. Aucun autre instrument de préparation d'échantillons ou de système de PCR ne peut être utilisé avec ce produit.
14. En raison des différences inhérentes à chaque technologie, il est recommandé aux utilisateurs, avant de passer d'une technologie à l'autre, de mener des études de corrélation de méthodes au sein de leur laboratoire afin de caractériser les différences entre les diverses technologies.
15. Les effets des autres variables comme l'écoulement vaginal, l'utilisation de tampons, les lavements, etc. et les variables de prélèvement des échantillons n'ont pas été considérés.
16. Bien qu'il s'agisse d'un cas rare, des mutations au niveau des zones hautement conservées de l'ADN génomique du virus du papillome humain couvert par les amorces et/ou les sondes du test **cobas**[®] 4800 HPV peuvent entraîner l'échec de la détection de l'ADN viral.
17. La présence d'inhibiteurs de PCR peut donner lieu à des faux négatifs ou à des résultats non valides.
18. Les échantillons cervicaux présentent souvent des taux de sang total que l'on reconnaît à leur coloration rose ou marron clair. Ces échantillons sont traités normalement sur le **cobas**[®] 4800 System. Si la concentration en sang total est supérieure à 2 % (coloration marron ou rouge foncé) dans le milieu Roche Cell Collection Medium ou dans la solution PreservCyt[®] ou est supérieure à 4 % dans le liquide de préservation SurePath[™] traité avec le tampon de préparation d'échantillon **cobas**[®], il est probable d'obtenir un résultat faux négatif. Reportez-vous aux résultats du test d'interférence pour obtenir plus de détails.
19. L'utilisation du gel vaginal Replens[®] a été associée à des résultats faussement négatifs dans le liquide de préservation SurePath[™].
20. L'utilisation de produits d'hygiène vaginale RepHresh[®] a été associée à des résultats faussement négatifs dans le milieu Roche Cell Collection Medium et la solution PreservCyt[®].
21. La suppression des globules rouges des échantillons recueillis dans le milieu Roche Cell Collection Medium, dans la solution PreservCyt[®] ou dans le liquide de préservation SurePath[™] via un traitement avec de l'acide acétique glacial n'a pas été validée avec le test **cobas**[®] 4800 HPV. Toute utilisation de traitements par acide acétique glacial avec le test **cobas**[®] 4800 HPV doit être validée par le laboratoire de test.

PERFORMANCES CLINIQUES AVEC DES ÉCHANTILLONS CLINIQUES

Performances comparées à un test HPV de comparaison marqué CE

La sensibilité clinique et la spécificité à l'état pathologique ($\geq$ CIN2) ont été déterminées pour le test **cobas**[®] 4800 HPV et un test HPV de comparaison marqué CE³⁸ au sein d'une population de femmes âgées d'au moins 21 ans présentant des résultats cytologiques ASC-US, déterminés par dépistage classique du cancer du col utérin. L'ensemble des tests a été effectué avec des échantillons cervicaux en solution PreservCyt[®]. Un total de 1 578 sujets présentant un résultat cytologique ASC-US initial ont procédé à une colposcopie et présenté des résultats de tests HPV et de biopsie cervicale valides. L'état pathologique de ces sujets a été confirmé par un panel d'examen pathologiques des échantillons de biopsie obtenus lors de la colposcopie. Les résultats d'une population avec ASC-US sont résumés au tableau 4. Ils indiquent que les performances du test **cobas**[®] 4800 HPV étaient comparables à celles du test de comparaison.

Tableau 4
Comparaison des performances du test cobas[®] 4800 HPV et d'un test HPV de comparaison marqué CE dans la détection de $\geq$ CIN2 et $\geq$ CIN3 au sein de la population ASC-US

	Test cobas [®] 4800 HPV		Test HPV marqué CE	
	Estimation ponctuelle	IC 95 %	Estimation ponctuelle	IC 95 %
$\geq$ CIN2				
Sensibilité (%)	90,0 (72/80)	(81,5, 94,8)	87,2 (68/78) ¹	(78,0, 92,9)
Spécificité (%)	70,5 (1056/1498)	(68,1, 72,7)	71,1 (1056/1485) ²	(68,8, 73,4)
Valeur prédictive positive (VPP) (%)	14,0 (72/514)	(12,8, 15,3)	13,7 (68/497)	(12,4, 15,1)
Valeur prédictive négative (VPN) (%)	99,2 (1056/1064)	(98,6, 99,6)	99,1 (1056/1066)	(98,3, 99,5)
Prévalence (%)	5,1 (80/1578)	(4,1, 6,3)	5,0 (78/1563)	(4,0, 6,2)
$\geq$ CIN3				
Sensibilité (%)	93,5 (43/46)	(82,5, 97,8)	91,3 (42/46)	(79,7, 96,6)
Spécificité (%)	69,3 (1053/1517)	(66,9, 71,5)	70,0 (1062/1517)	(67,7, 72,3)
Valeur prédictive positive (VPP) (%)	8,4 (43/514)	(7,6, 9,2)	8,5 (42/497)	(7,6, 9,4)
Valeur prédictive négative (VPN) (%)	99,7 (1061/1064)	(99,2, 99,9)	99,6 (1062/1066)	(99,0, 99,9)
Prévalence (%)	2,9 (43/1578)	(2,2, 3,9)	3,0 (46/1563)	(2,2, 3,9)

¹ Les résultats de deux sujets présentant un diagnostic $\geq$ CIN2 n'ont pas pu être déterminés par le test HPV de comparaison marqué CE en raison d'un volume insuffisant à la suite de tests répétés.

² Les résultats de treize sujets présentant un diagnostic $<$ CIN2 n'ont pas pu être déterminés par le test HPV de comparaison marqué CE en raison d'un volume insuffisant à la suite de tests répétés.

Chez les femmes de 30 ans et plus avec cytologie normale, le risque de maladie du col de l'utérus ($\geq$ CIN2) est 7,29 fois plus élevé avec un résultat de test **cobas**[®] 4800 HPV à haut risque positif qu'avec un résultat de test **cobas**[®] 4800 HPV négatif. Les estimations relatives de risque et leurs intervalles de confiance à 95 % sont présentés dans le tableau 5.

Chez les femmes de 30 ans et plus, le test **cobas**[®] 4800 HPV peut être utilisé pour évaluer la présence ou l'absence de génotypes de HPV 16 et 18. Le risque de maladie du col de l'utérus ($\geq$ CIN2) est 13,71 fois plus élevé avec un résultat de test **cobas**[®] 4800 HPV positif au HPV16 et/ou au HPV18 qu'avec un résultat négatif et le risque est 2,51 fois plus élevé avec un résultat de test **cobas**[®] 4800 HPV positif au HPV16 et/ou au HPV18 qu'avec un résultat de test **cobas**[®] 4800 HPV positif pour les 12 autres types à haut risque. Dans tous les cas, la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95 % dépasse 1, ce qui laisse penser que le risque de développer une maladie du col de l'utérus est statistiquement plus élevé lorsque le résultat de test HPV est positif.

Tableau 5
Risque relatif de maladie du col de l'utérus ($\geq$ CIN2 par examen pathologique central) chez les femmes de plus de 30 ans avec cytologie normale*

Résultat de HPV	Estimation relative de risque	IC 95 %*
Pos vs nég.	7,29	(3,99–22,11)
16+/18+ vs nég.	13,71	(7,31–41,92)
16+/18+ vs 12 autres HR+	2,51	(1,73–3,61)
Remarque : 0,5 a été ajouté à la valeur nulle du nombre estimé de sujets malades dans chacun des 1 000 échantillons bootstrap		
* L'IC 95 % correspond aux centiles 2,5 % et 97,5 % de l'IC bootstrap sur la base de 1 000 échantillons bootstrap		

Population NILM (≥ 30 ans) – Évaluation des performances

Pour la population NILM (≥ 30 ans), les estimations de sensibilité et de spécificité avec IC à 95 % pour le HPV HR positif par rapport au HPV HR négatif sont présentées au tableau 6 (résultats non ajustés).

La sensibilité et la spécificité non ajustées du test pour l'histologie ≥ CIN2 étaient respectivement de 83,2 % (109/131) avec IC à 95 % : de 75,9 % à 88,6 %, et 60,4 % (2492/4127) avec IC à 95 % : de 58,9 % à 61,9 %. La sensibilité et la spécificité non ajustées du test **cobas**® HPV pour la détection de l'histologie ≥ CIN3 étaient respectivement de 90,0 % (72/80) avec IC à 95 % : de 81,5 % à 94,8 %, et 60,0 % (2506/4178) avec IC à 95 % : de 58,5 % à 61,5 %.

Tableau 6
Performances du test cobas® 4800 HPV au sein de la population NILM (≥ 30 ans) (estimations non ajustées)

Diagnostic d'examen pathologique central (CPR)	Performances	Estimation	IC à 95 %
≥ CIN2	Sensibilité (%)	83,2 (109/131)	(75,9 ; 88,6)
	Spécificité (%)	60,4 (2492/4127)	(58,9 ; 61,9)
	Valeur prédictive positive (VPP) (%)	6,3 (109/1744)	(5,8 ; 6,8)
	Valeur prédictive négative (VPN) (%)	99,1 (2492/2514)	(98,7 ; 99,4)
	Prévalence (%)	3,1 (131/4258)	(2,6 ; 3,6)
≥ CIN3	Sensibilité (%)	90,0 (72/80)	(81,5 ; 94,8)
	Spécificité (%)	60,0 (2506/4178)	(58,5 ; 61,5)
	Valeur prédictive positive (VPP) (%)	4,1 (72/1744)	(3,8 ; 4,5)
	Valeur prédictive négative (VPN) (%)	99,7 (2506/2514)	(99,4 ; 99,8)
	Prévalence (%)	1,9 (80/4258)	(1,5 ; 2,3)

Population globale (≥ 25 ans) – Comparaison des performances du test HPV et de la cytologie

Les performances cliniques du test **cobas**® HPV et de la cytologie en milieu liquide (PreservCyt®) ont été déterminées au sein d'une population de 40 901 femmes de 25 ans et plus, indépendamment de l'état cytologique (population globale). Pour la population globale (≥ 25 ans), les estimations de sensibilité et de spécificité pour le test **cobas**® HPV et la cytologie pour la détection de ≥ CIN2 et ≥ CIN3 sont présentées³⁸ au tableau 7. Les sensibilités non ajustées du test **cobas**® HPV et de la cytologie pour la détection de ≥ CIN2 étaient respectivement de 88,2 % (380/431) avec IC à 95 % : de 84,8 à 90,9 %, et 51,5 % (222/431) avec IC de 46,8 à 56,2 %. Les sensibilités non ajustées du test **cobas**® HPV et de la cytologie pour la détection de ≥ CIN3 étaient respectivement de 92,0 % (252/274) avec IC à 95 % : de 88,1 à 94,6 %, et 53,3 % (146/274) avec IC de 47,4 à 59,1 %. Les spécificités ajustées au biais de vérification du test **cobas**® HPV et de la cytologie pour la détection de ≥ CIN2 étaient respectivement de 90,5 % (36343/40163) avec IC de 90,2 à 90,8 %, et 94,1 % (37811/40163) avec IC de 93,9 à 94,4 %.

Tableau 7
Comparaison des performances du test cobas® 4800 HPV et de la cytologie pour la détection de ≥ CIN2 et ≥ CIN3 au sein de la population globale (≥ 25 ans)

	Cytologie		Test cobas® HPV	
	% (n)	IC à 95 %	% (n)	IC à 95 %
≥ CIN2				
Sensibilité	51,5 (222/431)	(46,8 à 56,2)	88,2 (380/431)	(84,8 à 90,9)
Spécificité	73,4 (5428/7392)	(72,4 à 74,4)	57,8 (4270/7392)	(56,6 à 58,9)
VPP	10,2 (222/2186)	(9,3 à 11,1)	10,9 (380/3502)	(10,4 à 11,3)
VPN	96,3 (5428/5637)	(95,9 à 96,6)	98,8 (4270/4321)	(98,5 à 99,1)
≥ CIN3				
Sensibilité	53,3 (146/274)	(47,4 à 59,1)	92,0 (252/274)	(88,1 à 94,6)
Spécificité	73,0 (5509/7549)	(72,0 à 74,0)	56,9 (4299/7549)	(55,8 à 58,1)
VPP	6,7 (146/2186)	(6,0 à 7,4)	7,2 (252/3502)	(6,9 à 7,5)
VPN	97,7 (5509/5637)	(97,4 à 98,0)	99,5 (4299/4321)	(99,2 à 99,7)

Limite de détection : solution PreservCyt® et liquide de préservation SurePath™

La limite de détection (LOD) des géotypes de HPV à haut risque HPV16, HPV18 et HPV31 a été déterminée pour le test **cobas®** 4800 HPV. Les limites de détection ont été évaluées à l'aide 1) des plasmides de HPV31, HPV16 et HPV18 dans l'arrière-plan d'échantillons patient négatifs au HPV en pools prélevés en solution PreservCyt® et en liquide de préservation SurePath™, et 2) de lignées cellulaires positives au HPV SiHa (HPV16) et HeLa (HPV18) en solution PreservCyt® et en liquide de préservation SurePath™ contenant un arrière-plan de lignée cellulaire négative au HPV (HCT-15). Le plasmide et les lignées cellulaires ont été dilués aux concentrations inférieures, supérieures et égales aux niveaux prévus de limite de détection. Un minimum de 60 réplicats a été testé pour chaque niveau de plasmide ou lignée cellulaire à la fois en solution PreservCyt® et en liquide de préservation SurePath™ pour chacun des 3 lots de réactifs. Tous les tests effectués sur les échantillons SurePath™ ont été traités avec le tampon de préparation d'échantillon **cobas®**. La limite de détection est le niveau d'ADN de HPV dans l'échantillon présentant des résultats positifs au moins 95 % du temps. Les tableaux 8 et 9 présentent les résultats du lot de réactifs produisant la limite de détection la plus conservatrice (la plus élevée) dans l'analyse pour la solution PreservCyt® et le liquide de préservation SurePath™, respectivement.

Tableau 8
Niveaux de limite de détection pour les types de HPV 31, 16, 18
et les lignées cellulaires SiHa (HPV16) et HeLa (HPV18) en solution PreservCyt®

Type de HPV	Titre (copies ou cellules/mL)	Nombre de positifs/testés	% de positifs	Intervalle de confiance à 95 %	
				Inférieur	Supérieur
31	600	60/60	100 %	94 %	100 %
31	300	59/61	97 %	89 %	100 %
31	150	49/60	82 %	70 %	90 %
16	1500	60/60	100 %	94 %	100 %
16	600	60/60	100 %	94 %	100 %
16	300	55/61	90 %	80 %	96 %
18	1,500	60/60	100 %	94 %	100 %
18	600	60/60	100 %	94 %	100 %
18	300	42/61	69 %	56 %	80 %
SiHa (HPV 16)	200	66/66	100 %	95 %	100 %
SiHa (HPV 16)	100	64/65	98 %	92 %	100 %
SiHa (HPV 16)	50	57/60	95 %	86 %	99 %
HeLa (HPV 18)	80	60/60	100 %	94 %	100 %
HeLa (HPV 18)	40	60/60	100 %	94 %	100 %
HeLa (HPV 18)	20	56/60	93 %	84 %	98 %

Tableau 9
Niveaux de limite de détection pour les types de HPV 31, 16, 18
et les lignées cellulaires SiHa (HPV16) et HeLa (HPV18) en liquide de préservation SurePath™

Type de HPV	Titre (copies ou cellules/mL)	Nombre de positifs/testés	% de positifs	Intervalle de confiance à 95 %	
				Inférieur	Supérieur
31	600	60/60	100 %	94 %	100 %
31	300	59/59	100 %	94 %	100 %
31	150	54/60	90 %	80 %	96 %
16	600	60/60	100 %	94 %	100 %
16	300	59/60	98 %	91 %	100 %
16	150	40/60	67 %	53 %	78 %
18	1 500	60/60	100 %	94 %	100 %
18	600	60/60	100 %	94 %	100 %
18	300	55/59	93 %	84 %	98 %
SiHa (HPV 16)	400	60/60	100 %	94 %	100 %
SiHa (HPV 16)	200	60/60	100 %	94 %	100 %
SiHa (HPV 16)	100	55/60	92 %	82 %	97 %
HeLa (HPV 18)	80	60/60	100 %	94 %	100 %
HeLa (HPV 18)	40	59/60	98 %	91 %	100 %
HeLa (HPV 18)	20	43/60	72 %	59 %	83 %

Limite de détection : Roche Cell Collection Medium

Des panels de dilution de plasmides de lignées cellulaires de HPV31, HPV16 et HPV18 dans l'arrière-plan d'échantillons patient négatifs au HPV en pools recueillis dans le milieu Roche Cell Collection Medium et la solution PreservCyt® ont été testés en parallèle. la limite de détection pour le test **cobas®** 4800 HPV était comparable.

Vérification d'inclusivité

Pour vérifier que le test **cobas®** 4800 HPV est capable de détecter avec précision tous les génotypes de HPV à haut risque, la limite de détection (LOD) a été déterminée (tableaux 10 et 11) pour les génotypes 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68. La sensibilité du test **cobas®** 4800 HPV pour les génotypes de HPV 16, 18 et 31 a été déterminée dans l'étude de la limite de détection décrite ci-dessus dans la présente notice. Les stocks de plasmide quantifiés de chaque génotype de HPV ont été dilués soit dans une solution PreservCyt® soit dans un liquide de préservation SurePath™ contenant des cellules HCT-15 négatives au HPV à des concentrations inférieures, supérieures et égales aux niveaux prévus de limite de détection. Un lot de réactifs a été utilisé pour produire un minimum de 48 réplicats pour chaque niveau positif dans chaque milieu. Pour réaliser le test dans du liquide de préservation SurePath™ avec le tampon de préparation des échantillons **cobas®** (Tableau 11), du matériel de référence a été préparé à partir d'échantillons de cellules cervicales prélevés dans du liquide de préservation SurePath™ et a été testé en 24 réplicats de chaque avec deux lots de réactifs. Pour chaque type de HPV, la limite de détection rapportée a été définie comme étant la concentration de test la plus faible présentant un taux de succès positif ≥ 95 % avec pour toutes les concentrations supérieures un taux de succès d'au moins 95 %.

Tableau 10

Résumé de la limite de détection des génotypes à haut risque pour l'étude d'inclusivité des génotypes du test cobas® 4800 HPV (solution PreservCyt®)

Type d'ADN de HPV	LOD (copies/mL)	Nombre de positifs/testés	Taux de succès	Intervalle de confiance à 95 %	
				Inférieur	Supérieur
33	190	46/48	96 %	86 %	99 %
35	480	48/48	100 %	93 %	100 %
39	80	48/48	100 %	93 %	100 %
45	190	46/48	96 %	86 %	99 %
51	100	46/48	96 %	86 %	99 %
52	2400	48/48	100 %	93 %	100 %
56	1400	48/48	100 %	93 %	100 %
58	480	47/48	98 %	89 %	100 %
59	190	46/48	96 %	86 %	99 %
66	640	48/48	100 %	93 %	100 %
68	450	48/48	100 %	93 %	100 %

Tableau 11

Résumé de la limite de détection des génotypes à haut risque pour l'étude d'inclusivité des génotypes du test cobas® 4800 HPV (liquide de préservation SurePath™)

Type d'ADN de HPV	LOD (copies/mL)	Nombre de positifs/testés	Taux de succès	Intervalle de confiance à 95 %	
				Inférieur	Supérieur
33	300	48/48	100 %	93 %	100 %
35	600	47/48	100 %	89 %	100 %
39	150	48/48	100 %	93 %	100 %
45	300	48/48	100 %	93 %	100 %
51	600	46/48	96 %	86 %	99 %
52	4800	48/48	100 %	93 %	100 %
56	1200	46/48	96 %	86 %	99 %
58	600	48/48	100 %	93 %	100 %
59	600	48/48	100 %	93 %	100 %
66	1200	48/48	100 %	93 %	100 %
68	300	48/48	100 %	93 %	100 %

La précision interne a été examinée à l'aide de membres du panel préparé pour l'étude de la limite de détection décrite dans la présente notice. Les niveaux égaux ou supérieurs à la limite de détection ont été utilisés pour l'analyse de précision. Les panels ont été préparés en dopant les plasmides de HPV31, HPV16 et HPV18 dans l'arrière-plan d'échantillons patient négatifs au HPV en pools prélevés sur solution PreservCyt® et sur liquide de préservation SurePath™. Tous les tests effectués sur les échantillons SurePath™ ont été traités avec le tampon de préparation d'échantillon **cobas®**.

Les taux de succès positifs pour les membres des panels (solution PreservCyt® et liquide de préservation SurePath™) au niveau et au-dessus de la limite de détection sont indiqués dans les tableaux 12 et 13, respectivement. Les taux de succès étaient au-dessus de 95 % pour tous les niveaux de panel de plasmides. La variation de la valeur Ct pour le test a été analysée et la contribution des facteurs aléatoires de lot de réactif, de systèmes, d'un run à l'autre ou dans un même run a été calculée et résumée dans le tableau 14 pour la solution PreservCyt® et dans le tableau 15 pour le liquide de préservation SurePath™. Le tableau 16 indique la déviation standard et le CV (en %) de la valeur Ct des composants de variation dans la solution PreservCyt®. Le tableau 17 indique la déviation standard et le CV (en %) de la valeur Ct des composants de variation dans le liquide de préservation SurePath™.

Tableau 12
Résumé des taux de succès pour l'étude de précision du test cobas® 4800 HPV
au niveau ou au-dessus de la limite de détection (dans la solution PreservCyt®)

Cible	Niveau panel	Concentration (copies ou cellules/mL)	N tests	N pos	Taux de succès	IC 95 % pour taux de succès	
						Inférieur	Supérieur
HPV31	> LOD	600	186	186	100 %	98 %	100 %
	= LOD	300	187	184	98 %	95 %	100 %
HPV16	> LOD	1500	186	186	100 %	98 %	100 %
	= LOD	600	186	186	100 %	98 %	100 %
HPV18	> LOD	1500	186	186	100 %	98 %	100 %
	= LOD	600	186	186	100 %	98 %	100 %

Tableau 13
Résumé des taux de succès pour l'étude de précision du test cobas® 4800 HPV
au niveau ou au-dessus de la limite de détection (dans le liquide de préservation SurePath™)

Cible	Niveau panel	Concentration (copies ou cellules/mL)	N tests	N pos	Taux de succès	IC 95 % pour taux de succès	
						Inférieur	Supérieur
HPV31	> LOD	300	180	180	100 %	98 %	100 %
	= LOD	150	180	175	97 %	94 %	99 %
HPV16	> LOD	600	180	180	100 %	98 %	100 %
	= LOD	300	180	180	100 %	98 %	100 %
HPV18	> LOD	1500	180	180	100 %	98 %	100 %
	= LOD	600	180	180	100 %	98 %	100 %

Tableau 14
Analyse des composants de variation de la valeur Ct pour les niveaux de panel de l'étude de précision
du test cobas® 4800 HPV préparés en solution PreservCyt®

Cible	Niveau panel	N	Coude moyen	Composants de variation/contribution en pourcents				
				Lot réac.	Système	Run	Aléatoire	Total
HPV16	> LOD	186	36,3	0,038	0	0,111	0,079	0,228
				17 %	0 %	49 %	35 %	100 %
	= LOD	186	37,5	0,025	0	0,042	0,161	0,228
				11 %	0 %	18 %	71 %	100 %
HPV18	> LOD	186	36,6	0,043	0	0,149	0,067	0,259
				16 %	0 %	58 %	26 %	100 %
	= LOD	186	37,8	0,027	0	0,050	0,184	0,261
				10 %	0 %	19 %	71 %	100 %
HPV31	> LOD	186	36,5	0,003	0,002	0,105	0,187	0,297
				1 %	1 %	35 %	63 %	100 %
	= LOD	187	37,6	0,020	0	0,157	0,489	0,666
				3 %	0 %	24 %	73 %	100 %

Tableau 15
Analyse des composants de variation de la valeur Ct pour les niveaux de panel de l'étude de précision
du test cobas® 4800 HPV préparés en liquide de préservation SurePath™

Cible	Niveau panel	N	Coude moyen	Composants de variation/contribution en pourcents				
				Lot réac.	Système	Run	Aléatoire	Total
HPV16	> LOD	180	37,2	0,014	0	0,039	0,157	0,209
				7 %	0 %	18 %	75 %	100 %
	= LOD	180	38,2	0	0	0,090	0,316	0,405
				0 %	0 %	22 %	78 %	100 %
HPV18	> LOD	180	36,3	0,011	0	0,119	0,073	0,204
				5 %	0 %	58 %	36 %	100 %
	= LOD	180	37,7	0	0	0,148	0,219	0,366
				0 %	0 %	40 %	60 %	100 %
HPV31	> LOD	180	37,2	0	0	0,099	0,393	0,493
				0 %	0 %	20 %	80 %	100 %
	= LOD	180	38,1	0,026	0,015	0,038	0,684	0,764
				3 %	2 %	5 %	90 %	100 %

Tableau 16
Analyse de la déviation standard et du CV (en %) de la valeur Ct pour les niveaux de panel de l'étude de précision
du test cobas® 4800 HPV préparés en solution PreservCyt®

Cible	Niveau panel	N	Coude moyen	Composants DS/CV en %				
				Lot réac.	Système	Run	Aléatoire	Total
HPV16	> LOD	186	36,3	0,19	0	0,33	0,28	0,48
				0,50 %	0,00 %	0,90 %	0,80 %	1,30 %
	= LOD	186	37,5	0,16	0	0,20	0,40	0,48
				0,40 %	0,00 %	0,50 %	1,10 %	1,30 %
HPV18	> LOD	186	36,6	0,21	0	0,39	0,26	0,51
				0,60 %	0,00 %	1,10 %	0,70 %	1,40 %
	= LOD	186	37,8	0,16	0	0,22	0,43	0,51
				0,40 %	0,00 %	0,60 %	1,10 %	1,30 %
HPV31	> LOD	186	36,5	0,05	0,05	0,32	0,43	0,54
				0,10 %	0,10 %	0,90 %	1,20 %	1,50 %
	= LOD	187	37,6	0,14	0	0,40	0,70	0,82
				0,40 %	0,00 %	1,10 %	1,90 %	2,20 %

Tableau 17
Analyse de la déviation standard et du CV (en %) de la valeur Ct pour les niveaux de panel de l'étude de précision
du test cobas® 4800 HPV préparés en liquide de préservation SurePath™

Cible	Niveau panel	N	Coude moyen	Composants DS/CV en %				
				Lot réac.	Système	Run	Aléatoire	Total
HPV16	> LOD	180	37,2	0,12	0	0,20	0,40	0,46
				0,30 %	0,00 %	0,50 %	1,10 %	1,20 %
	= LOD	180	38,2	0	0	0,30	0,56	0,64
				0,00 %	0,00 %	0,80 %	1,50 %	1,70 %
HPV18	> LOD	180	36,3	0,11	0	0,34	0,27	0,45
				0,30 %	0,00 %	1,00 %	0,70 %	1,20 %
	= LOD	180	37,7	0	0	0,38	0,47	0,61
				0,00 %	0,00 %	1,00 %	1,20 %	1,60 %
HPV31	> LOD	180	37,2	0	0,02	0,32	0,63	0,70
				0,00 %	0,10 %	0,80 %	1,70 %	1,90 %
	= LOD	180	38,1	0,16	0,12	0,20	0,83	0,87
				0,40 %	0,30 %	0,50 %	2,20 %	2,30 %

Précision : Roche Cell Collection Medium

Les panels ont été préparés en dopant l'ADN de lignées cellulaires de HPV16 et l'ADN de lignées cellulaires de HPV18 dans l'arrière-plan d'échantillons patient négatifs au HPV en pools recueillis dans le milieu Roche Cell Collection Medium au niveau et au-dessus de la limite de détection. L'analyse de panels préparés dans le milieu Roche Cell Collection Medium a démontré une précision comparable à la précision de panels préparés dans la solution PreservCyt®.

Spécificité analytique

Un panel de bactéries, champignons et virus, notamment de ceux que l'on trouve communément dans le système urogénital féminin, ainsi que de nombreux types du virus du papillome humain classés comme étant à risque faible ou indéterminé ont été analysés avec le test **cobas®** 4800 HPV pour évaluer la spécificité analytique. Les organismes figurant dans le tableau 18 ont été dopés en concentrations élevées ($\geq 1 \times 10^3$ unités/réaction) en échantillons de solution PreservCyt® négatifs au HPV et en échantillons de solution PreservCyt® négatifs au HPV dopés avec ADN plasmidique de HPV 31, HPV16 et HPV18 à 3 fois la limite de détection. Les organismes avec un astérisque ont également été testés en échantillons de solution de préservation SurePath™ dans les mêmes conditions. Les organismes avec deux astérisques ont été testés uniquement en échantillons de solution SurePath™. Tous les tests effectués sur les échantillons dans SurePath™ ont été traités avec le tampon de préparation des échantillons **cobas®**. Les résultats ont indiqué qu'aucun de ces organismes n'interférait avec la détection d'ADN plasmidique de HPV31, HPV16 et HPV18 ou ne produisait de faux positifs dans l'échantillon négatif au HPV.

Tableau 18
Microorganismes testés pour la spécificité analytique

<i>Achromobacter xerosis</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i> *
<i>Acinetobacter calcaceticus</i>	Virus de l'hépatite B (HBV)	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	Virus Herpes simplex 1*	<i>Streptococcus faecalis</i> **
<i>Acinetobacter sp. genospecies 3</i>	Virus Herpes simplex 2*	<i>Streptococcus pyogenes</i> *
<i>Actinomyces israelii</i>	Virus de l'immunodéficience humaine (HIV-1)	<i>Streptococcus sanguis</i>
Adénovirus*	<i>Kingella kingae</i>	SV40
<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Klebsiella pneumoniae ss ozaenae</i> *	<i>Treponema pallidum</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> *	<i>Trichomonas vaginalis</i> *
<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Lactobacillus crisptus</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Bacteroides caccae</i> **	<i>Lactobacillus delbrueckii s. lactis</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Lactobacillus jensenii</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	<i>Lactobacillus vaginalis</i>	<i>Weissella paramesenteroides</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Lactococcus lactis cremoris</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> *	<i>Legionella pneumophila</i>	HPV 6*
<i>Bifidobacterium brevi</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	HPV 11*
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Mobiluncus curtisii s. curtisii</i>	HPV 26*
<i>Candida albicans</i> *	<i>Moraxella osloensis</i>	HPV 30**
<i>Chlamydia trachomatis</i> *	<i>Morganella morganii</i>	HPV 34**
<i>Chromobacter violaceum</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	HPV 40
<i>Citrobacter braakii</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	HPV 42
<i>Clostridium adolescentis</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i>	HPV 53**
<i>Clostridium beijerinckii</i> **	<i>Mycoplasma hominis</i>	HPV 54
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> *	HPV 55B
<i>Corynebacterium genitalium</i> **	<i>Neisseria meningitidis</i> Sérogruppe A	HPV 61
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	HPV 62
Cytomégalo virus*	<i>Pediococcus acidilactici</i>	HPV 64
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> *	HPV 67*
<i>Enterobacter aerogenes</i> **	<i>Propionibacterium acnes</i>	HPV 69*
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Proteus mirabilis</i> *	HPV 70*
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	HPV 71
<i>Enterococcus faecium</i> *	<i>Providencia stuartii</i>	HPV 72
Virus d'Epstein Barr*	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	HPV 73*
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i> **	HPV 81
<i>Escherichia coli</i> *	<i>Ruminococcus productus</i>	HPV 82*
<i>Ewingella americana</i>	<i>Salmonella minnesota</i>	HPV 83
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Serratia marcescens</i>	HPV 84
<i>Fusobacterium varium</i> **	<i>Staphylococcus aureus</i> *	HPV 85**
<i>Gemella morbillorum</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i> *	HPV 89 (CP6108)
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-

*Testé à la fois avec PreservCyt® et échantillon de solution SurePath™

**Testé uniquement avec échantillon de solution SurePath™

Interférences

Les échantillons cervicaux positifs au HPV et négatifs au HPV ainsi que les échantillons combinés ont été utilisés pour évaluer les effets des substances interférentes endogènes et exogènes qui pourraient potentiellement se trouver dans les échantillons cervicaux. Les substances de test utilisées dans ces études sont décrites dans le tableau 19. Les concentrations de substances endogènes et exogènes testées représentent des conditions pouvant se présenter lors du prélèvement d'échantillons.

Le sang total, les cellules mononucléaires de sang périphérique (PBMC) et le mucus cervical ont été testés comme étant des substances interférentes endogènes potentielles détectées dans les échantillons cervicaux. Tous les tests effectués sur les échantillons SurePath™ ont été traités avec le tampon de préparation d'échantillon **cobas®**. Le tableau 20 décrit les niveaux de chaque substance interférente potentielle testée et contient des observations sur les performances. Aucune interférence n'a été constatée pour les PBMC ou le mucus cervical, quel que soit le niveau testé. Le sang total n'a présenté aucune interférence lorsqu'il est présent en quantités visuellement détectables (jusqu'à 2 %) dans le milieu Roche Cell Collection Medium et la solution PreservCyt®. Le sang total n'a présenté aucune interférence lorsqu'il est présent en quantités visuellement détectables (jusqu'à 4 %) dans le liquide de préservation SurePath™.

Tableau 19
Description des échantillons du test d'interférence

Type d'échantillon	Description
Échantillons cervicaux positifs au HPV	10 échantillons individuels positifs au HPV en solution PreservCyt® ont été aliquotés pour le test avec et sans substances interférentes endogènes
Échantillons cervicaux négatifs au HPV	10 échantillons individuels négatifs au HPV en solution PreservCyt® ont été aliquotés pour le test avec et sans substances interférentes endogènes
Échantillons cervicaux positifs au HPV combiné	Des échantillons positifs au HPV (canal 1) en solution PreservCyt® ont été dilués avec des échantillons négatifs au HPV à un niveau environ égal à trois fois la limite de détection. Des plasmides de HPV de types 16 (canal 2) et 18 (canal 3) ont été ensuite ajoutés à environ 3 fois la limite de détection. Du plasmide de HPV31, de l'ADN de lignées cellulaires de HPV16 et de l'ADN de lignées cellulaires de HPV18 ont été ajoutés à ~3X la limite de détection (LOD) à des échantillons négatifs au HPV recueillis dans le milieu Roche Cell Collection Medium.
Pools de solution PreservCyt® et de liquide de préservation SurePath™ à 3 fois la limite de détection	Des plasmides de HPV de types 31, 16 et 18 ont été dilués respectivement à 3 x LOD en pools d'échantillons négatifs en solution PreservCyt® et en liquide de préservation SurePath™.

Tableau 20
Résultats de test d'interférence avec interférents endogènes

Interfèrent testé	Concentrations testées	Interférence observée	
		PreservCyt®	SurePath™
Sang total	1 %, 1,5 %, 2 %, 3 %, 4 %, 6 %, 8 % v/v	Plus de 2 %	Plus de 4 %
PBMC	10 ⁴ , 10 ⁵ , 10 ⁶ cellules/mL	Aucune	Aucune
Mucus cervical	Mucus obtenu par procédure de lavage cervical standard	Aucune	Aucune

Un total de 18 produits contraceptifs et d'hygiène féminine en vente libre ont été testés en tant que substances interférentes potentielles. Le tableau 21 décrit les types d'interfèrents potentiels testés et présente des observations sur les performances dans des pools de milieu Roche Cell Collection Medium, de solution PreservCyt® et de liquide de préservation SurePath™ à 3 x LOD.

Tableau 21
Résultats de test d'interférence avec interférents exogènes

Description de l'interfèrent	Interférence observée
Gels, mousses contraceptifs	Aucune
Lubrifiants vaginaux	*Oui
Poire à lavement vaginal	Aucune
Crèmes antifongiques contenant 1 % de clotrimazole, chlorhydrate de phénazopyridine, 1 % d'hydrocortisone, 2 % de nitrate de miconazole, 6,5 % d'onguent tioconazole, 20 % de benzocaïne	Aucune

* Replens® (gel anti-sécheresse locale) a produit des résultats négatifs dans des réplicats de pool de liquide de conservation SurePath™ à 3 x LOD. Cette interférence a également été observée lorsque le matériau SurePath™ était traité avec le tampon de préparation des échantillons **cobas®**. Les produits d'hygiène vaginale RepHresh® ont généré des résultats négatifs dans des réplicats de pools de milieu Roche Cell Collection Medium et de solution PreservCyt® à 3 x LOD.

Il a été ajouté à trois pools d'échantillons dans SurePath™ négatifs au test HPV du matériau d'échantillon positif HPV de type 51 dans SurePath™ pour produire des pools d'échantillons positifs, fortement positifs et faiblement positifs. Le pool faiblement positif présentait un niveau aux environs de la limite de détection (LOD) pour le test au Jour 0 avant traitement avec le tampon de préparation des échantillons **cobas®**. Ces pools ont été conservés à 32 °C et testés à plusieurs intervalles jusqu'à 6 semaines. Les échantillons en pool ont été traités afin d'inverser les réticulations induites par la matrice et ont ensuite été analysés à l'aide du test **cobas®** 4800 HPV à chaque intervalle de temps. L'ensemble des trois pools ont maintenu une Ct moyenne inférieure au seuil clinique pour l'HPV de type 51 (40,0 pour le canal 1) sur toute la durée de conservation de 6 semaines (voir tableau 22).

Tableau 22
Résultats de stabilité des échantillons pendant 6 semaines dans SurePath™ avec traitement à l'aide du tampon de préparation des échantillons cobas®

Pools SurePath™	Valeurs de Ct moyennes*				
	Jour 0	Semaine 1	Semaine 3	Semaine 4	Semaine 6
Fortement positif	28,7	30,1	30,3	30,6	31,1
Positif	32,9	33,5	34,1	33,9	34,6
Faiblement positif (~LOD)	36,9	37,9	38,0	38,8	38,7

*Intervalles pour les faiblement positifs testés en 40 réplicats ; intervalles pour les positifs testés en 30 réplicats ; intervalles pour les fortement positifs testés en 20 réplicats

Corrélation entre les résultats d'échantillons auto-prélevés à l'aide d'écouillons FLOQSwab® 552C.80 et ceux d'échantillons prélevés par le personnel médical

Une comparaison des résultats d'échantillons vaginaux auto-prélevés et des résultats d'échantillons cervicaux prélevés par le personnel médical a été réalisée à partir d'échantillons appariés provenant de 744 femmes éligibles au dépistage.

Chaque femme a d'abord prélevé son échantillon à l'aide d'un écouillon FLOQSwab® 552C.80 (Copan, Italie) qui a été mis en suspension dans le milieu Roche Cell Collection Medium ou la solution PreservCyt® après le prélèvement. Un second échantillon a été prélevé par un membre du personnel médical au cours de la même visite, selon le protocole de norme de soin ; l'échantillon prélevé par le personnel médical a été mis en suspension dans le même type de milieu que l'échantillon auto-prélevé.

Les taux de résultats invalides pour les échantillons auto-prélevés et les échantillons prélevés par le personnel médical étaient de 4,6 % et 0,3 %, respectivement. Au total, 708 résultats appariés valides ont été utilisés pour l'analyse de corrélation. Les échantillons positifs à l'un des 14 génotypes de HPV à haut risque détectés par le test (HPV-HR) ont été considérés comme positifs ; les échantillons avec des résultats négatifs pour les 14 génotypes de HPV à haut risque détectés par le test ont été considérés comme négatifs.

Les résultats de la corrélation et les pourcentages de concordance positive, négative et globale calculés avec des intervalles de confiance de 95 % sont présentés dans le Tableau 23.

Tableau 23
Corrélation entre les résultats d'échantillons vaginaux auto-prélevés à l'aide d'écouillons FLOQSwab® 552C.80 et ceux d'échantillons cervicaux prélevés par le personnel médical

		Échantillon cervical prélevé par le personnel médical		Total
		Résultat 14 HR		
		Positifs	Négatif	
Échantillon vaginal auto-prélevé à l'aide de FLOQSwab® 552C.80	Positifs	161	48	209
	Négatif	22	477	499
Total		183	525	708

	Résultat (%)	Intervalle de confiance à 95 %
Pourcentage de corrélation positive	88,0 %	82,5-91,9 %
Pourcentage de corrélation négative	90,8 %	88,1-93,0 %
Pourcentage de corrélation globale	90,1 %	87,7-92,1 %

Corrélation entre les résultats d'échantillons auto-prélevés à l'aide de la Evalyn® Brush et ceux d'échantillons prélevés par le personnel médical

Une comparaison des résultats d'échantillons vaginaux auto-prélevés et des résultats d'échantillons cervicaux prélevés par le personnel médical a été réalisée à partir d'échantillons appariés provenant de 784 femmes éligibles au dépistage.

Chaque femme a d'abord prélevé son échantillon à l'aide d'une Evalyn® Brush (Rovers, Pays-Bas) qui a été mis en suspension dans le milieu Roche Cell Collection Medium ou la solution PreservCyt® après le prélèvement. Un second échantillon a été prélevé par un membre du personnel médical au cours de la même visite, selon le protocole de norme de soin ; l'échantillon prélevé par le personnel médical a été mis en suspension dans le même type de milieu que l'échantillon auto-prélevé.

Les taux de résultats invalides pour les échantillons auto-prélevés et les échantillons prélevés par le personnel médical étaient de 4,7 % et 0,4 %, respectivement. Au total, 742 résultats appariés valides ont été utilisés pour l'analyse de corrélation. Les échantillons positifs à l'un des 14 génotypes de HPV à haut risque détectés par le test (HPV-HR) ont été considérés comme positifs ; les échantillons avec des résultats négatifs pour les 14 génotypes de HPV à haut risque détectés par le test ont été considérés comme négatifs.

Les résultats de la corrélation et les pourcentages de concordance positive, négative et globale calculés avec des intervalles de confiance de 95 % sont présentés dans le tableau 24.

Tableau 24

Corrélation entre les résultats d'échantillons vaginaux auto-prélevés à l'aide de la Evalyn® Brush et ceux d'échantillons cervicaux prélevés par le personnel médical

		Échantillon cervical prélevé par le personnel médical		Total
		Résultat 14 HR		
		Positifs	Négatif	
Échantillons vaginaux auto-prélevés à l'aide de la Evalyn® Brush	Positifs	195	37	232
	Négatif	25	485	510
Total		220	522	742

	Résultat (%)	Intervalle de confiance à 95 %
Pourcentage de corrélation positive	88,6 %	83,8-92,2 %
Pourcentage de corrélation négative	92,9 %	90,4-94,8 %
Pourcentage de corrélation globale	91,6 %	89,4-93,4 %

RÉFÉRENCES

1. Burd, Eileen M. 2003. Human Papillomavirus and Cervical Cancer. *Clinical Microbiology Reviews*. **16**:1-17.
2. zur Hausen, H. 2002. Papillomaviruses and Cancer: From Basic Studies to Clinical Application. *Nat Rev Cancer*. **2(5)**:342-50.
3. Walboomers, Jan M.M., Jacobs, Marcel V., Manos, M.M., et al. 1999. Human Papillomavirus is a Necessary Cause of Invasive Cervical Cancer Worldwide. *Journal of Pathology*. **189**:12-19.
4. Bernard HU. Review: The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. *J Clin Virol*. 2005; **32S**, S1-6.
5. Molijn A, Kleter B, Quint W, van Doorn, L. Review: Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. *J Clin Virol*. 2005; **32S**:S43-51.
6. zur Hausen H. Roots and perspectives of contemporary papillomavirus research. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1996; **122**:3-13.
7. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology*. 2004; **324**:17-27.
8. Franco EL, Rohan TE, Villa LL. Epidemiologic evidence and human papillomavirus infection as a necessary cause of cervical cancer. *J Natl Cancer Inst*. 1999; **91**:506-511.
9. Lorincz AT, Reid R, Jenson AB, et al. Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. *Obstet Gynecol*. 1992; **79**:328-37.
10. Bosch, F.X., Manos, M.M., Munoz, N., et al. 1995. International Biological Study on Cervical Cancer (IBSCC) Study Group. Prevalence of Human Papillomavirus in Cervical Cancer: a Worldwide Perspective. *Journal of the National Cancer Institute*, Vol. 87, No. **11**:796-802.
11. Bosch, F.X., A. Lorincz, N. Muñoz, C.J.L.M. Meijer, K.V. Shah (2002) "The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer" *J Clin Path* **55**:244-265.
12. Muñoz N, F.X. Bosch, S. de Sanjosé, R. Herrero, X. Castellsagué, K.V. Shah, P.J.F. Snijders, and Chris J.L.M. Meijer, for the International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. (2003) "Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer" *N Engl J Med* **348(6)**:518-527.
13. Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Muñoz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br J Cancer*. 2003; **88**:63-73.
14. Koutsky, L. 1997. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *American Journal of Medicine*. **102(5A)**:3-8.
15. Winer RL, Kiviat NB, Hughes JP, et al. Development and duration of human papillomavirus lesions, after initial infection. *J Infect Dis*. 2005; **191**:731-738.
16. Moscicki, A, Schiffman M, Kjaer S, Villa L. Updating the natural history of HPV and anogenital cancer. *Vaccine* 2006; **24(S3)**; 42-51.
17. Moscicki AB, Ellenberg JH, Farhat S, Xu J. Persistence of human papillomavirus infection in HIV-infected and -uninfected adolescent girls: risk factors and differences, by phylogenetic type. *J Infect Dis*. 2004 Jul **1**; **190(1)**:37-45.
18. Palmer Castle PE, Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Rodriguez AC, Bratti MC, Sherman ME, Wacholder S, Tarone R, Burk RD. A prospective study of age trends in cervical human papillomavirus acquisition and persistence in Guanacaste, Costa Rica. *J Infect Dis*. 2005 Jun **1**; **191(11)**:1808-16.
19. Zielinski GD, Snijders PJF, Rozendaal I, et al. High-risk HPV testing in women with borderline and mild dyskaryosis; long term follow-up data and clinical relevance. *J Pathol* 2001; **195**:300-306.
20. Holowaty P, Miller AB, Rohan T, To T. Natural history of dysplasia of the uterine cervix, *J Natl Cancer Inst* 1999; **91**:252-58.
21. Nobbenhuis MA, Helmerhorst TJ, van den Brule AJ, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Bezemer PD, Verheijen RH, Meijer CJ. Cytological regression and clearance of high-risk human papillomavirus in women with an abnormal cervical smear. *Lancet*. 2001; **358(9295)**:1782-1783.
22. Cuzick J, Clavel C, Petry KU, et al. Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer* 2006; **119**:1095-1101.
23. Whitlock EP, Vesco KK, Eder M, Lin JS, Senger CA, Burda BU. Liquid-based cytology and human papillomavirus testing to screen for cervical cancer: a systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2011; **155**:687,697, W214-5.
24. Myers, T.W. and Gelfand, D.H. 1991. Reverse transcription and DNA amplification by a *Thermus thermophilus* DNA polymerase. *Biochemistry*. **30**:7661-7666.
25. Davies, P., Kornegay, J., Iftner, T. 2001. Current methods of testing for human papillomavirus. *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*. Vol. 15, No. **5**:677-700.
26. Birch, D.E., et al. 1996. The use of a thermally activated DNA polymerase PCR gives improved specificity, sensitivity and product yield without additives or extra process steps. *Nature*. Vol 381, No **6581**:445-446.
27. Meng, Q., et al. 2001. Automated Multiplex Assay System for Simultaneous Detection of Hepatitis B Virus DNA, Hepatitis C Virus RNA, and Human Immunodeficiency Virus Type 1 RNA. *J Clin Microbiol*. Vol 39, No **8**:2937-2945.
28. Longo, M.C., Berninger, M.S. and Hartley, J.L. 1990. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. **93**:125-128.

29. Higuchi, R., Dollinger, G., Walsh, P.S., and Griffith, R. 1992. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Bio/Technology* **10**:413-417.
30. Heid, C.A., Stevens, J., Livak, J.K., and Williams, P.M. 1996. Real time quantitative PCR. *Genome Research* **6**:986-994.
31. Richmond, J.Y. and McKinney, R.W. eds. 1999. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. HHS Publication Number (CDC) 93-8395.
32. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Approved Guideline-Third Edition. CLSI Document M29-A3 Villanova, PA:CLSI, 2005.
33. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations, 48th Edition. 2007.
34. Wheeler, C.M., Hunt, W.C., Joste, N.E., Key, C.R., Quint, W.G.V. and Castle, P.E. 2009. Human Papillomavirus Genotype Distributions: Implications for Vaccination and Cancer Screening in the United States. *J Natl Cancer Inst.* **101**:475-487.
35. Khan, M.J., Castle, P.E., Lorincz, A.T., Wacholder, S., Sherman, M., Scott, D.R., Rush, B.B., Glass, A.G. and Schiffman, M. 2005. The Elevated 10-Year Risk of Cervical Precancer and Cancer in Women With Human Papillomavirus (HPV) Type 16 and 18 and the Possible Utility of Type-Specific HPV Testing in Clinical Practice. *J Natl Cancer Inst.* **97**:1072-1079.
36. Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, and Solomon D. 2007. 2006 Consensus Guidelines for the Management of Women with Abnormal Cervical Cancer Screening Tests, *Am J Obstet Gynecol* **197 (4)**: 346-355.
37. Saslow D, Runowicz CD, Solomon D, Moscicki A-B, Smith RA, Eyre HJ, Cohen C. 2002, American Cancer Society Guideline for the Early Detection of Cervical Neoplasia and Cancer. *CA Can Jour Clin* **53**: 342-362.
38. Stoler MH, Wright TC Jr, Sharma A, Apple R, Gutekunst K, Wright TL; ATHENA(Addressing THE Need for Advanced HPV Diagnostics) HPV Study Group. High-risk human papillomavirus testing in women with ASC-US cytology: results from the ATHENA HPV study. *Am J Clin Pathol.* 2011 Mar;**135(3)**:468-475.

Informations sur la révision du document	
Doc Rev. 23.0 11/2023	Tableau 23 corrigé. Correction de la mise en forme dans le document, au besoin. Mise à jour de la marque cobas[®]. Veillez contacter votre représentant local Roche si vous avez des questions.
Doc Rev. 24.0 08/2024	Mise à jour des informations sur les dangers des kits de préparation des échantillons. Mise à jour des informations sur les dangers des Liquid Cytology Preparation Kits et des Wash Buffer Kits. Mise à jour de la déclaration relative à l'autorité compétente. Suppression du numéro de document et de la version au-dessus du symbole EC REP pour éviter les informations redondantes. Retrait du symbole « Rx Only » de la page de couverture. Mise à jour de la page des symboles harmonisés. Veillez contacter votre représentant local Roche si vous avez des questions.

Le résumé du rapport sur la sécurité et les performances peut être consulté en utilisant le lien suivant :
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Assistance technique

Pour bénéficier d'une assistance technique, merci de vous adresser à votre filiale locale :
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Fabricant et importateur



Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876, USA
www.roche.com

Fabriqué aux États-Unis



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Marques commerciales et brevets

Voir <https://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents>

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Les symboles suivants sont utilisés dans toute la documentation accompagnant les produits de diagnostic par PCR de Roche.

Age/DOB Âge ou date de naissance



Logiciel auxiliaire

Assigned Range [copies/mL] Plage assignée (copies/mL)

Assigned Range [IU/mL] Plage assignée (IU/mL)

EC REP Mandataire dans la Communauté européenne

BARCODE Fiche technique à code-barres

LOT Code du lot



Risques biologiques

REF Référence du catalogue



Marquage CE de conformité ; ce dispositif est conforme aux exigences en vigueur concernant le marquage CE d'un dispositif médical de diagnostic *in vitro*

Collect Date Date de collecte



Consulter les instructions d'utilisation



Suffisant pour <n> tests

CONTENT Contenu du kit

CONTROL Contrôle



Date de fabrication



Dispositif pour tests à proximité du patient



Dispositif pour auto-test



Dispositif non adapté aux tests à proximité du patient



Dispositif non adapté à l'auto-test



Distributeur
(Remarque : le pays/la région applicable peut être indiqué(e) sous le symbole.)



Ne pas réutiliser



Femme



Pour évaluation des performances DIV uniquement

GTIN Code article international



Importateur

IVD Dispositif médical de diagnostic *in vitro*

LLR Limite inférieure de la plage assignée



Homme



Fabricant

CONTROL - Contrôle négatif



Non stérile



Nom du patient



Numéro patient



Retirer ici

CONTROL + Contrôle positif

QS copies / PCR

Copies QS par réaction de PCR, utiliser les copies QS par réaction de PCR pour le calcul des résultats.

QS IU/PCR

UI QS par réaction de PCR, utiliser les unités internationales (UI) QS par réaction de PCR pour le calcul des résultats.

SN Numéro de série

Site Site

Procedure Standard Procédure standard

STERILE EO Stérilisé à l'aide d'oxyde d'éthylène



Conserver dans un endroit sombre



Limites de température



Fichier de définition de tests



Orienté vers le haut

Procedure UltraSensitive Procédure ultrasensible

UDI Identification de dispositif unique

ULR Limite supérieure de la plage assignée

Urine Fill Line Ligne de remplissage d'urine

Rx Only

États-Unis uniquement : la législation fédérale américaine limite la vente de ce dispositif aux professionnels de santé autorisés à exercer.



Date limite d'utilisation