

PER USO DIAGNOSTICO *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

AVVISO: acquistando il presente prodotto si acquisisce il diritto all'uso dello stesso per le finalità di amplificazione e rilevazione delle sequenze di acido nucleico tramite PCR (polymerase chain reaction, reazione a catena della polimerasi) e i processi di diagnostica umana *in vitro* correlati. Non si acquisisce tuttavia nessun'altra licenza di nessun tipo, ad eccezione del suddetto diritto specifico all'uso derivante dall'acquisto.

USO PREVISTO

Il test cobas[®] 4800 Human Papillomavirus (HPV) è un test qualitativo per la rilevazione *in vitro* del papilloma virus umano (Human Papillomavirus, HPV) nei campioni delle pazienti. Il test si basa sull'amplificazione del DNA target mediante reazione a catena della polimerasi (PCR) e sull'ibridazione dell'acido nucleico. In questo modo consente di determinare 14 tipi di HPV ad alto rischio (High Risk, HR) in un'unica analisi. Il test identifica in modo specifico i tipi HPV16 e HPV18 e contestualmente altri tipi ad alto rischio (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68) a livelli di infezione clinicamente rilevanti. Gli unici campioni che è possibile utilizzare sono le cellule cervicali raccolte nei terreni di trasporto Roche Cell Collection Medium (Roche Molecular Systems, Inc), PreservCyt[®] Solution (Hologic Corp.) e SurePath[™] Preservative Fluid (BD Diagnostics-TriPath).

Indicazioni per l'uso del test cobas[®] 4800 HPV:

- Il test cobas[®] 4800 HPV è destinato all'uso nello screening delle pazienti con citologia cervicale ASC-US (atypical squamous cells of undetermined significance, cellule squamose atipiche non ulteriormente classificabili), per stabilire la necessità di eseguire o meno una colposcopia.
- Il test cobas[®] 4800 HPV è destinato all'uso nello screening delle pazienti con citologia cervicale ASC-US, per valutare la presenza o l'assenza dei genotipi di HPV ad alto rischio 16 e 18.
- Il test cobas[®] 4800 HPV è destinato all'uso a completamento della citologia cervicale, per valutare la presenza o l'assenza di tipi di HPV ad alto rischio.
- Il test cobas[®] 4800 HPV è destinato all'uso a completamento della citologia cervicale, per valutare la presenza o l'assenza dei genotipi di HPV 16 e 18.
- Il test cobas[®] 4800 HPV è destinato all'uso come test di screening primario in prima linea per identificare le donne a rischio di sviluppare carcinoma cervicale o per rilevare la presenza di una patologia di alto grado.
- Il test cobas[®] 4800 HPV è destinato all'uso come test di screening primario in prima linea per valutare la presenza o l'assenza dei genotipi di HPV 16 e 18.

Il test cobas[®] 4800 HPV può essere impiegato anche con i campioni vaginali autoprelevati seguendo le istruzioni di un operatore sanitario e raccolti in Roche Cell Collection Medium o PreservCyt[®] Solution.

I risultati del test cobas[®] HPV possono aiutare nella gestione della paziente se sono utilizzati a completamento della valutazione del medico curante, tenendo quindi conto della storia citologica della paziente, degli altri fattori di rischio e dei protocolli sanitari. I risultati del test cobas[®] HPV non devono essere utilizzati per dissuadere le pazienti dal sottoporsi a colposcopia.

RIASSUNTO E SPIEGAZIONE DEL TEST

Le infezioni persistenti da Papillomavirus umano (HPV) sono le cause dei carcinomi della cervice uterina e dei loro precursori, le neoplasie intraepiteliali cervicali (CIN)¹⁻³. L'HPV è presente in oltre il 99% dei carcinomi della cervice uterina riscontrati nella popolazione mondiale³. L'HPV è un piccolo virus nudo (senza involucro), con DNA a filamento doppio, il cui genoma è composto da circa 8000 nucleotidi. Sono stati identificati più di 118 tipi di HPV^{4,5}; di questi, circa 40 possono infettare la mucosa anogenitale umana^{6,7}. Fortunatamente, per quanto riguarda lo sviluppo del carcinoma della cervice uterina e delle lesioni che normalmente lo precedono sono considerati ad alto rischio soltanto tra 13 e 18 genotipi^{3,8-13}. Da un'analisi dei dati raccolti in uno studio caso-controllo multicentrico dell'IARC (International Agency of Research on Cancer) relativamente al carcinoma epidermoide della cervice uterina con infezione da HPV si evince che il rapporto di probabilità (Odds Ratio, OR) è pari a 158,2 se l'analisi è limitata ai soli studi basati sulle tecniche consolidate per la rilevazione dell'HPV¹². Secondo questo studio, i rapporti di probabilità che riguardano il carcinoma della cervice variano da 109 a 276 (dati provenienti da diverse località del mondo)¹².

Sebbene l'infezione persistente da HPV ad alto rischio (high-risk, HR) sia un prerequisito per lo sviluppo del carcinoma della cervice uterina e delle lesioni che lo precedono, soltanto una piccola percentuale di queste infezioni progredisce verso uno stato patologico. L'infezione da HPV trasmessa per via sessuale è talmente diffusa che, secondo le stime, il 75% delle donne è esposto all'HPV nel corso della propria vita¹⁴. Tuttavia in oltre il 90% dei casi l'organismo femminile mette in atto una risposta immunitaria efficace e riesce ad annullare l'infezione nel giro di 6-24 mesi, senza conseguenze sulla salute a lungo termine¹⁵⁻²⁰. Se si contrae un'infezione da un tipo qualsiasi di HPV, è possibile che si sviluppi una neoplasia intraepiteliale cervicale (CIN), ma anche questa generalmente regredisce quando l'infezione da HPV viene sconfitta²¹.

I paesi sviluppati hanno adottato importanti programmi di prevenzione del carcinoma cervicale. Fin dalla metà degli anni '50 viene infatti effettuato uno screening dei precursori del carcinoma della cervice attraverso il principale strumento diagnostico, il Pap test. Nonostante il Pap test abbia contribuito a ridurre il tasso di mortalità legato al carcinoma della cervice in questi Paesi, si tratta comunque di un test che deve essere interpretato da citopatologi altamente qualificati ed è inoltre relativamente impreciso, perché ha una percentuale elevata di falsi negativi. Le anomalie citologiche osservate nel Pap test sono in genere causate da un'infezione da HPV, ma anche alcune variazioni infiammatorie e variazioni di campionamento possono determinare risultati falsi positivi al Pap test. Dopo un Pap test positivo, è previsto un protocollo con ripetizione del test, colposcopia e biopsia.

Se la lesione di alto grado è confermata in sede istologica, è necessario intervenire chirurgicamente e impedire che si sviluppi un carcinoma invasivo della cervice.

Il Papillomavirus è estremamente difficile da coltivare *in vitro* e la risposta anticorpale non è rilevabile in tutte le pazienti infette da HPV. L'analisi PCR dell'acido nucleico (DNA) è un metodo non invasivo per determinare la presenza di un'infezione della cervice dovuta all'HPV. Il ricorso ai test del DNA dell'HPV ha migliorato l'efficienza dei programmi di screening del carcinoma cervicale, in quanto ha reso possibile la diagnosi precoce delle lesioni ad alto rischio nelle pazienti di 30 anni o più con citologia NILM (Negative for Intraepithelial Lesion and Malignancy, negativo per lesioni intraepiteliali o malignità) e, allo stesso tempo, ha consentito una riduzione del numero di colposcopie e trattamenti non strettamente necessari a cui venivano sottoposte le pazienti di 21 anni o più con citologia ASCUS. Inoltre è ampiamente documentato che i test del DNA dell'HPV sono più sensibili rispetto agli strisci del Pap test per quanto riguarda l'identificazione di patologie di alto grado nella popolazione sottoposta a screening^{22,23}. In virtù della maggiore sensibilità riconosciuta, il test del DNA dell'HPV è stato proposto e adottato in prima linea come esame primario in diversi programmi di screening.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il test **cobas**[®] 4800 HPV si basa essenzialmente su due processi: (1) preparazione automatizzata dei campioni per l'estrazione simultanea del DNA cellulare e dell'HPV; (2) amplificazione PCR²⁴ di sequenze di DNA target tramite l'uso di coppie complementari di primer specifici per l'HPV e la β -globina e rilevazione real-time delle sonde oligonucleotidiche fluorescenti segmentate, specifiche per l'HPV e la β -globina. Mediante l'estrazione, l'amplificazione e la rilevazione simultanee della β -globina nel test **cobas**[®] 4800 HPV è possibile monitorare l'intero processo.

Il reagente Master Mix del test **cobas**[®] 4800 HPV contiene coppie di primer e sonde specifiche per il DNA dei 14 tipi di HPV ad alto rischio e della β -globina. La rilevazione del DNA amplificato (amplicone) avviene durante il ciclo termico per mezzo di sonde oligonucleotidiche marcate con quattro diversi fluorocromi. Il segnale amplificato di dodici tipi di HPV ad alto rischio (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68) può essere rilevato utilizzando uno stesso fluorocromo, mentre i segnali dei tipi HPV16, HPV18 e della β -globina vengono rilevati ognuno con un fluorocromo specifico.

Preparazione dei campioni

La preparazione dei campioni per il test **cobas**[®] 4800 HPV è automatizzata grazie all'uso del **cobas**[®] x 480 instrument. I campioni cervicali raccolti in Roche Cell Collection Medium, PreservCyt[®] Solution o SurePath[™] Preservative Fluid vengono sottoposti a digestione in condizioni di denaturazione a temperature elevate e successivamente lisati in presenza di un reagente caotropico. Gli acidi nucleici di HPV estratti e il DNA della β -globina, che funge da controllo, vengono purificati tramite assorbimento sulle biglie magnetiche, lavaggio e separazione finale dalle biglie in modo da poter essere sottoposti ad amplificazione PCR e rilevazione.

Amplificazione PCR

Selezione del target

Il test **cobas**[®] 4800 HPV utilizza i primer per definire una sequenza di circa 200 nucleotidi nell'ambito della regione L1 polimorfica del genoma dell'HPV. Un pool di primer HPV nel reagente Master Mix è formulato in modo specifico per l'amplificazione del DNA di 14 tipi di HPV ad alto rischio (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68)^{3,8-13,25}. Le sonde oligonucleotidiche fluorescenti si legano alle regioni polimorfiche nella sequenza definita da questi primer.

Un'ulteriore coppia primer-sonda ha come target il gene della β -globina umana (amplicone a 330 bp), che svolge il ruolo di controllo.

Amplificazione del target

La DNA polimerasi EagleZ05²⁶, una versione chimicamente modificata della DNA polimerasi *Thermus species* Z05²⁷, viene utilizzata per l'amplificazione "hot start" dei target di HPV e del controllo β -globina. Dapprima la miscela della reazione PCR viene riscaldata per consentire l'attivazione della DNA polimerasi EagleZ05, la denaturazione del DNA virale e del DNA genomico e l'esposizione delle sequenze target dei primer. A mano a mano che la miscela si raffredda, i primer upstream e downstream (a monte e a valle) si appaiano alle sequenze di DNA target. In presenza dello ione metallico divalente e dei dNTP in eccesso, la DNA polimerasi EagleZ05 estende i primer e un secondo filamento di DNA viene sintetizzato. Si completa così il primo ciclo di PCR, che produce una copia di DNA a doppio filamento della regione target del genoma dell'HPV e del gene della β -globina. La DNA polimerasi estende i primer appaiati lungo gli stampi target e genera così una molecola di DNA a doppio filamento dell'HPV target costituita da circa 200 paia di basi, oppure una molecola di DNA della β -globina costituita da 330 paia di basi, denominata amplicone. Questo processo viene ripetuto per un preciso numero di cicli e la quantità di DNA amplicone raddoppia ad ogni ciclo. L'amplificazione interessa soltanto la regione del genoma dell'HPV e/o del gene della β -globina tra le coppie di primer appropriate. Non viene amplificato l'intero genoma.

Rilevazione automatizzata real-time

Il test **cobas**[®] 4800 HPV si basa sulla tecnologia Real-time PCR^{29,30}. Ogni sonda oligonucleotidica nella reazione è marcata con un fluorocromo reporter, che attiva la fluorescenza, e con un fluorocromo quencher, che sopprime invece le emissioni fluorescenti del colorante in una sonda intatta. Con il progredire dell'amplificazione, le sonde che sono complementari all'amplicone si legano alle sequenze di DNA a filamento singolo specifiche e vengono segmentate dall'attività della 5'-3' nucleasi della DNA polimerasi EagleZ05. Una volta separato dal fluorocromo quencher per effetto di questa attività della nucleasi, il fluorocromo reporter inizia ad emettere segnali fluorescenti ad una lunghezza d'onda caratteristica quando viene eccitato con lo spettro di luce opportuno. L'esistenza di una lunghezza d'onda caratteristica per ogni fluorocromo consente dunque di misurare indipendentemente l'uno dall'altro gli ampliconi di HPV16, HPV18 e di altri tipi ad alto rischio (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68), nonché l'amplicone del controllo β -globina, poiché le sonde specifiche per queste sequenze sono marcate con fluorocromi diversi.

Amplificazione selettiva

Con il test **cobas**[®] 4800 HPV, è possibile ottenere l'amplificazione selettiva degli acidi nucleici target estratti dai campioni clinici grazie all'uso dell'enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasi) e del trifosfato di deossiridina (dUTP). L'enzima AmpErase riconosce e catalizza la distruzione dei filamenti di DNA contenenti deossiridina²⁸, ma non del DNA contenente deossitimidina. La deossiridina non è presente nel DNA naturale, ma è sempre presente nell'amplicone perché il trifosfato di deossiridina viene utilizzato al posto del trifosfato di timidina come uno dei dNTP nel reagente Master Mix, pertanto solo l'amplicone contiene deossiridina. Proprio la presenza della deossiridina rende l'amplicone contaminante suscettibile alla distruzione da parte dell'enzima AmpErase prima dell'amplificazione del DNA target. L'enzima AmpErase contenuto nel reagente Master Mix catalizza la segmentazione del DNA contenente deossiridina nei residui di deossiridina, aprendo la catena di deossiribosio nella posizione C1. Quando viene riscaldata nella prima fase del ciclo termico, la catena di DNA dell'amplicone si spezza in corrispondenza della posizione della deossiridina, rendendo il DNA non amplificabile. L'enzima AmpErase è inattivo a temperature superiori ai 55°C (quindi durante tutte le fasi del ciclo termico), di conseguenza non distrugge l'amplicone target. È dimostrato che l'enzima AmpErase contenuto nel test **cobas**[®] 4800 HPV rende inattive almeno 10³ copie di amplicone di HPV contenenti deossiridina per ogni ciclo di PCR.

REAGENTI

cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Kit di preparazione dei campioni per il cobas® 4800 System) (c4800 SMPL PREP) 240 test (P/N: 05235782190)			
Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento ^a
MGP (Biglie magnetiche per il cobas® 4800 System)	Biglie magnetiche 93% Alcol isopropilico ^b	10 × 4,5 ml	 <p>PERICOLO</p> <p>H225: Liquido e vapori facilmente infiammabili. H319: Provoca grave irritazione oculare. H336: Può provocare sonnolenza o vertigini. P210: Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. Non fumare. P233: Tenere il recipiente ben chiuso. P261: Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P280: Indossare guanti/Proteggere gli occhi/il viso. P303 + P361 + P353: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle/fare una doccia. P370 + P378: In caso di incendio: utilizzare sabbia asciutta, polvere chimica secca o schiuma resistente all'alcol per estinguere. 67-63-0 Propan-2-olo</p>
EB (Tampone di eluizione per il cobas® 4800 System)	Tampone Tris 0,09% Sodio azide	10 × 18 ml	N/D

^a L'etichettatura per la sicurezza dei prodotti è conforme principalmente alle indicazioni GHS dell'Unione Europea.

^b Sostanza pericolosa.

cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Kit di preparazione dei campioni per il cobas® 4800 System) (c4800 SMPL PREP) 960 test (P/N: 05235804190)			
Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento ^a
MGP (Biglie magnetiche per il cobas® 4800 System)	Biglie magnetiche 93% Alcol isopropilico ^b	10 × 13,5 ml	 <p>PERICOLO</p> <p>H225: Liquido e vapori facilmente infiammabili. H319: Provoca grave irritazione oculare. H336: Può provocare sonnolenza o vertigini. P210: Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. Non fumare. P233: Tenere il recipiente ben chiuso. P261: Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. P303 + P361 + P353: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle. P370 + P378: In caso di incendio: utilizzare sabbia asciutta, polvere chimica secca o schiuma resistente all'alcol per estinguere. 67-63-0 Propan-2-olo</p>
EB (Tampone di eluizione per il cobas® 4800 System)	Tampone Tris 0,09% Sodio azide	10 × 18 ml	N/D

^a L'etichettatura per la sicurezza dei prodotti è conforme principalmente alle indicazioni GHS dell'Unione Europea.

^b Sostanza pericolosa.

cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Kit del tampone di lavaggio per cobas® 4800 System) (c4800 WB) 240 test (P/N: 05235863190)			
Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento
WB (Tampone di lavaggio per cobas® 4800 System)	Citrato di sodio diidrato 0,05% N-Metilisotiazolone-HCl	10 × 55 ml	N/D
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Kit del tampone di lavaggio per cobas® 4800 System) (c4800 WB) 960 test (P/N: 05235871190)			
Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento
WB (Tampone di lavaggio per cobas® 4800 System)	Citrato di sodio diidrato 0,05% N-Metilisotiazolone-HCl	10 × 200 ml	N/D
cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit (Kit di preparazione di citologia liquida per il cobas® 4800 System) (c4800 LIQ CYT) 240 test (P/N: 05235812190)			
Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento ^a
PK (Proteinasi K cobas® 4800)	Tampone Tris < 0,05% EDTA Cloruro di calcio Acetato di calcio Glicerolo < 2% Proteinasi K ^b	10 × 0,9 ml	 <p>PERICOLO</p> <p>H317: Può provocare una reazione allergica cutanea. H334: Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato. P261: Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P280: Indossare guanti protettivi. P284: Indossare un apparecchio di protezione respiratoria. P304 + P340: IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. P333 + P313: In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. P342 + P311: In caso di sintomi respiratori: contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico. 39450-01-6 Proteinasi, Tritirachium album serina</p>
SDS (Reagente SDS per il cobas® 4800 System)	Tampone Tris 0,2% SDS 0,09% Sodio azide	10 × 3 ml	N/D
LYS (Buffer di lisi per il cobas® 4800 System)	Tampone Tris 37% (p/p) Guanidina-HCl ^b < 5% Polidocanolo ^b	10 × 10 ml	 <p>PERICOLO</p> <p>H302: Nocivo per ingestione. H315: Provoca irritazione cutanea. H318: Provoca gravi lesioni oculari. P264: Lavare accuratamente la pelle dopo l'uso. P270: Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso. P280: Indossare guanti/Proteggere gli occhi/il viso. P301 + P312 + P330: IN CASO DI INGESTIONE: in caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico. Sciacquare la bocca. P305 + P351 + P338 + P310: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico. P501: Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione dei rifiuti autorizzato. 50-01-1 Cloruro di guanidinio 9002-92-0 Polidocanolo</p>

^a L'etichettatura per la sicurezza dei prodotti è conforme principalmente alle indicazioni GHS dell'Unione Europea.

^b Sostanza pericolosa.

cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit (Kit di preparazione di citologia liquida per il cobas® 4800 System)
(c4800 LIQ CYT)
960 test (P/N: 05235839190)

Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento ^a
PK (Proteinasi K cobas® 4800)	Tampone Tris < 0,05% EDTA Cloruro di calcio Acetato di calcio Glicerolo < 2% Proteinasi K ^b	20 × 1,2 ml	 <p>PERICOLO</p> <p>H317: Può provocare una reazione allergica cutanea. H334: Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato. P261: Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P280: Indossare guanti protettivi. P284: Indossare un apparecchio di protezione respiratoria. P304 + P340: IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. P333 + P313: In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. P342 + P311: In caso di sintomi respiratori: contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico. 39450-01-6 Proteinasi, Triticachium album serina</p>
SDS (Reagente SDS per il cobas® 4800 System)	Tampone Tris 0,2% SDS 0,09% Sodio azide	10 × 9 ml	N/D
LYS (Buffer di lisi per il cobas® 4800 System)	Tampone Tris 37% (p/p) Guanidina-HCl ^b < 5% Polidocanolo ^b	10 × 36 ml	 <p>PERICOLO</p> <p>H302: Nocivo per ingestione. H315: Provoca irritazione cutanea. H318: Provoca gravi lesioni oculari. P264: Lavare accuratamente la pelle dopo l'uso. P270: Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso. P280: Indossare guanti/Proteggere gli occhi/il viso. P301 + P312 + P330: IN CASO DI INGESTIONE: In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico. Sciacquare la bocca. P305 + P351 + P338 + P310: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico. P501: Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione dei rifiuti autorizzato. 50-01-1 Cloruro di guanidinio 9002-92-0 Polidocanolo</p>

^a L'etichettatura per la sicurezza dei prodotti è conforme principalmente alle indicazioni GHS dell'Unione Europea.

^b Sostanza pericolosa.

cobas® 4800 HPV Amplification/Detection Kit (Kit di amplificazione/rilevazione cobas® 4800 HPV) (c4800 HPV AMP/DET) 240 test (P/N: 05235901190)			
Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento
HPV MMX (Master Mix per il test cobas® 4800 HPV)	Tampone tricina Acetato di potassio Idrossido di potassio Glicerolo < 0,13% dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01% Primer HPV a monte e a valle < 0,01% Primer β-globina a monte e a valle < 0,01% Sonde fluorescenti HPV < 0,01% Sonde fluorescenti β-globina < 0,10% DNA Polimerasi EagleZ05 (batterica) < 0,10% Enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasi) (batterico) 0,09% Sodio azide	10 × 0,5 ml	N/D
HPV Mg/Mn (Soluzione Mg/Mn per il test cobas® 4800 HPV)	Acetato di magnesio Acetato di manganese < 0,02% Acido acetico glaciale 0,09% Sodio azide	10 × 1,0 ml	N/D

cobas® 4800 HPV Amplification/Detection Kit (Kit di amplificazione/rilevazione cobas® 4800 HPV) (c4800 HPV AMP/DET) 960 test (P/N: 05235910190)			
Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento
HPV MMX (Master Mix per il test cobas® 4800 HPV)	Tampone tricina Acetato di potassio Idrossido di potassio Glicerolo < 0,13% dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01% Primer HPV a monte e a valle < 0,01% Primer β-globina a monte e a valle < 0,01% Sonde fluorescenti HPV < 0,01% Sonde fluorescenti β-globina < 0,10% DNA Polimerasi EagleZ05 (batterica) < 0,10% Enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasi) (batterico) 0,09% Sodio azide	20 × 1,0 ml	N/D
HPV Mg/Mn (Soluzione Mg/Mn per il test cobas® 4800 HPV)	Acetato di magnesio Acetato di manganese < 0,02% Acido acetico glaciale 0,09% Sodio azide	10 × 1,0 ml	N/D

cobas® 4800 HPV Controls Kit (Kit di controlli cobas® 4800 HPV) (c4800 HPV CTLs) 10 set (P/N: 05235855190)			
Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento
HPV (+) C (Controllo positivo cobas® 4800 HPV)	Tampone Tris EDTA 0,05% Sodio azide < 0,00001% Poly rA RNA (sintetico) < 0,00001% DNA plasmidico non infettivo (batterico) contenente sequenze dei tipi 16, 18 e 39 di HPV < 0,00001% DNA plasmidico non infettivo (batterico) contenente sequenza di β-globina umana	10 × 0,5 ml	N/D
(-) C (Controllo Negativo per il cobas® 4800 System)	Tampone Tris EDTA 0,05% Sodio azide < 0,00001% Poly rA RNA (sintetico)	10 × 0,5 ml	N/D

NOTA: l'etichettatura per la sicurezza dei prodotti è conforme principalmente alle indicazioni GHS dell'Unione Europea.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- A. **PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO.**
- B. Dopo la raccolta, i campioni vaginali autoprelevati devono essere sospesi in Roche Cell Collection Medium o in PreservCyt® Solution.
- C. Se, dopo la raccolta, i campioni non vengono sospesi nel terreno di trasporto, i risultati ottenuti per i campioni autoprelevati potrebbero essere falsi negativi o non validi.
- D. Non pipettare con la bocca.
- E. Evitare di mangiare, bere e fumare nelle aree di lavoro del laboratorio. Durante la manipolazione dei campioni e dei reagenti del kit, indossare guanti monouso, camici da laboratorio e protezioni per gli occhi. Dopo avere manipolato i campioni e i reagenti del test, lavarsi accuratamente le mani.
- F. Evitare la contaminazione dei reagenti con batteri e DNA.
- G. Smaltire i reagenti inutilizzati e il materiale di scarto nel rispetto delle leggi vigenti a livello locale, statale e regionale.
- H. Non utilizzare i reagenti dopo le date di scadenza.
- I. Non combinare i reagenti.
- J. Le schede di sicurezza dei materiali (Material Safety Data Sheets, MSDS) sono disponibili su richiesta presso l'ufficio Roche locale.
- K. Per evitare contaminazioni è necessario indossare i guanti, che dovranno essere sostituiti dopo avere manipolato i campioni e prima di utilizzare i reagenti **cobas® 4800**.
- L. I campioni devono essere manipolati come se fossero infettivi, adottando le procedure di sicurezza del laboratorio delineate nella pubblicazione *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*³¹ e nel documento CLSI M29-A3³².
- M. **LYS** contiene guanidina idrocloruro. **Impedire il contatto diretto tra la guanidina idrocloruro e l'ipoclorito di sodio (candeggina) o altri reagenti altamente reattivi, ad esempio acidi o basici. Queste miscele possono rilasciare un gas nocivo.** In caso di fuoriuscita del liquido contenente guanidina idrocloruro, pulire con acqua e un detergente da laboratorio idoneo. Se il liquido fuoriuscito contiene agenti potenzialmente infettivi, pulire la superficie interessata **PRIMA** con acqua e un detergente da laboratorio, quindi con ipoclorito di sodio allo 0,5%.
- N. Il prodotto **MGP** contiene isopropanolo ed è facilmente infiammabile. Tenere al riparo da fiamme libere e da ambienti dove si possono verificare scintille.
- O. I reagenti **EB, SDS, HPV MMX, HPV Mg/Mn, (-) C** e **HPV (+) C** contengono sodio azide. La sodio azide può reagire con le tubature di piombo e rame, formando azoturi metallici altamente esplosivi. In caso di smaltimento delle soluzioni contenenti sodio azide nei lavelli del laboratorio, lavare gli scarichi con abbondante acqua fredda per impedire l'accumulo di azoturi.
- P. Durante la manipolazione dei reagenti, indossare camici da laboratorio, guanti monouso e una protezione adeguata per gli occhi. Evitare il contatto di questi materiali con la pelle, gli occhi o le membrane mucose. In caso di contatto, lavare immediatamente con abbondante acqua. Intervenire tempestivamente per prevenire possibili ustioni. In caso di fuoriuscita del reagente, diluire con acqua prima di asciugare.
- Q. Tutti i materiali monouso possono essere utilizzati una sola volta. Non riutilizzare.
- R. Non utilizzare una soluzione di ipoclorito di sodio (candeggina) per pulire il **cobas® x 480** instrument o il **cobas® z 480** analyzer. Pulire il **cobas® x 480** instrument o il **cobas® z 480** analyzer attenendosi alle procedure descritte nell'Assistenza Utente del **cobas® 4800** System.
- S. Per ulteriori avvertimenti, precauzioni e procedure volte a ridurre il rischio di contaminazione per il **cobas® x 480** instrument o il **cobas® z 480** analyzer, consultare l'Assistenza Utente del **cobas® 4800** System.
- T. Non utilizzare reagenti o contenitori visibilmente danneggiati o con segni evidenti di perdite.
- U. In caso di un grave incidente verificatosi durante l'uso di questo test, segnalarlo alla propria autorità competente locale.

REQUISITI PER LA MANIPOLAZIONE E LA CONSERVAZIONE

- A. **Non congelare i reagenti.**
- B. Conservare i reagenti **MGP, EB, PK, SDS, LYS, HPV MMX, HPV Mg/Mn, HPV (+) C** e **(-) C** a 2-8°C. Questi reagenti sono stabili fino alla data di scadenza indicata.
- C. Conservare il reagente **WB** a 15-25°C. Questo reagente è stabile fino alla data di scadenza indicata.

MATERIALI FORNITI

- | | | |
|--|------------------------|-----------------|
| A. cobas® 4800 System Sample Preparation Kit
Kit di preparazione dei campioni per il cobas® 4800 System
(P/N: 05235782190) | c4800 SMPL PREP | 240 test |
| MGP
(Biglie magnetiche cobas® 4800) | | |
| EB
(Buffer di eluizione per il cobas® 4800 System) | | |
| B. cobas® 4800 System Sample Preparation Kit
Kit di preparazione dei campioni per il cobas® 4800 System
(P/N: 05235804190) | c4800 SMPL PREP | 960 test |
| MGP
(Biglie magnetiche cobas® 4800) | | |
| EB
(Buffer di eluizione per il cobas® 4800 System) | | |
| C. cobas® 4800 System Wash Buffer Kit
Kit del buffer di lavaggio per il cobas® 4800 System
(P/N: 05235863190) | c4800 WB | 240 test |
| WB
(Buffer di lavaggio per il cobas® 4800 System) | | |

<p>D. cobas® 4800 System Wash Buffer Kit Kit del buffer di lavaggio per il cobas® 4800 System (P/N: 05235871190)</p> <p>WB (Buffer di lavaggio per il cobas® 4800 System)</p>	c4800 WB	960 test
<p>E. cobas® 4800 HPV Amplification/Detection Kit Kit di amplificazione/rilevazione cobas® 4800 HPV (P/N: 05235901190)</p> <p>HPV MMX (Master Mix cobas® 4800 HPV)</p> <p>HPV Mg/Mn (Soluzione Mg/Mn cobas® 4800 HPV)</p>	c4800 HPV AMP/DET	240 test
<p>F. cobas® 4800 HPV Amplification/Detection Kit Kit di amplificazione/rilevazione cobas® 4800 HPV (P/N: 05235910190)</p> <p>HPV MMX (Master Mix cobas® 4800 HPV)</p> <p>HPV Mg/Mn (Soluzione Mg/Mn cobas® 4800 HPV)</p>	c4800 HPV AMP/DET	960 test
<p>G. cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit Kit di preparazione per citologia liquida per il cobas® 4800 System (P/N: 05235812190)</p> <p>PK (Proteinasi K cobas® 4800)</p> <p>SDS (Reagente SDS per il cobas® 4800 System)</p> <p>LYS (Buffer di lisi per il cobas® 4800 System)</p>	c4800 LIQ CYT	240 test
<p>H. cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit Kit di preparazione per citologia liquida per il cobas® 4800 System (P/N: 05235839190)</p> <p>PK (Proteinasi K cobas® 4800)</p> <p>SDS (Reagente SDS per il cobas® 4800 System)</p> <p>LYS (Buffer di lisi per il cobas® 4800 System)</p>	c4800 LIQ CYT	960 test
<p>I. cobas® 4800 HPV Controls Kit Kit di controlli cobas® 4800 HPV (P/N: 05235855190)</p> <p>HPV (+) C (Controllo positivo cobas® 4800 HPV)</p> <p>(-) C (Controllo negativo per il cobas® 4800 System)</p>	c4800 HPV CTLS	10 set

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Manipolazione di campioni e reagenti

- Roche Cell Collection Medium (Roche P/N 07994745190, opzionale)
- Tappi di ricambio per Roche Cell Collection Medium (Roche P/N 08037230190, opzionale)
- Spazzola citologica cervicale Roche Cell Collection Medium (Roche P/N 08399832190, opzionale)
- Spazzola citologica cervicale, sterile (Roche P/N 08779040190, opzionale)
- Tamponi Copan FLOQSwab® per autoprelievo vaginale, 552C.80 (Roche P/N 09032932190)
- Rovers Evalyn® Brush (Roche P/N 09032959190)
- Istruzioni per la sospensione dei campioni raccolti con i tamponi Copan FLOQSwabs® per autoprelievo vaginale, 552C.80 (Roche P/N 09652671001)
- Istruzioni per la sospensione dei campioni raccolti con Evalyn® Brush (Roche P/N 09907238001)
- Puntali CO-RE, 1000 µl, rack da 96 (Roche P/N 04639642001 o Hamilton P/N 235905)
- Vaschetta per reagenti da 50 ml (Roche P/N 05232732001)
- Vaschetta per reagenti da 200 ml (Roche P/N 05232759001)
- Per HPV ASAP v2.0.1 utilizzare la piastra di preparazione (DWP) da 1,6 ml per il **cobas® 4800 System** (Roche P/N 05232716001)
- Per HPV ASAP v2.1 utilizzare la piastra di preparazione (DWP) da 2,0 ml per il **cobas® 4800 System** (Roche P/N 06884008001)

- Piastra per PCR (micropozzetti) da 0,3 ml e pellicola adesiva per il **cobas**[®] 4800 System (Roche P/N 05232724001)
- Sacchetto per rifiuti solidi [Roche P/N 05530873001 (piccolo) o 04691989001 (grande)]
- Manica di smaltimento in plastica Hamilton STAR (Roche P/N 04639669001)
- Provette da 13 ml a fondo tondo (Roche P/N 07958048190) da usare come contenitori per campioni secondari
- Tappi, colore neutro (Roche P/N 07958056190; per ritappare dopo l'analisi i campioni contenuti nei tubi da 13 ml a fondo tondo)
- Guanti monouso, senza talco

Strumentazione e software

- **cobas**[®] x 480 instrument
- **cobas**[®] z 480 analyzer
- Unità di controllo del **cobas**[®] 4800 System con software di sistema versione 2.2 o successiva
- Software **cobas**[®] HPV AP versione 2.0 o successiva per il **cobas**[®] 4800 System

Materiali e strumenti opzionali

- **cobas**[®] Sample Prep Buffer (Roche P/N 06526985190; detergente tamponato Tris)*
- Pipette: capaci di erogare 1000 µl
- Puntali privi di DNasi con barriera antiaerosol: capaci di erogare 1000 µl
- Centrifuga dotata di cestello basculante con RCF minimo di 1500
- Piastra magnetica indipendente (Roche P/N 05440777001)
- Miselatore Vortex (monoprovetta)
- Miselatore Vortex multiprovetta [ad esempio, VWR P/N 58816-116]
- Etichette termoresistenti per codici a barre (RACO Industries; n. cat. RAC-225075-9501)
- Termometro -20/150°C (VWR n. cat. 89095-600) o equivalente
- Blocco di riscaldamento digitale 120 V (VWR n. cat. 75838-294) o equivalente
- Blocco di riscaldamento modulare a 12 fori da 16 mm (VWR n. cat. 13259-162) o equivalente

* Un flacone aperto di **cobas**[®] Sample Prep Buffer (CSPB) può essere conservato a temperatura ambiente (15-30°C) per un massimo di 21 giorni e per un massimo di 4 sedute separate nel trattamento preanalitico dei campioni in SurePath™.

PRELIEVO, TRASPORTO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

NOTA: *manipolare tutti i campioni come se fossero in grado di trasmettere agenti infettivi.*

A. Raccolta dei campioni

Sono stati validati per l'uso con il test **cobas**[®] 4800 HPV i campioni cervicali raccolti nei terreni di trasporto Roche Cell Collection Medium, PreservCyt[®] Solution e SurePath™ Preservative Fluid.

Sono stati validati per l'uso con il test **cobas**[®] 4800 HPV i campioni vaginali raccolti con i tamponi FLOQSwab[®] per autoprelievo vaginale e sospesi in Roche Cell Collection Medium e PreservCyt[®] Solution.

I campioni vaginali raccolti con Evalyn[®] Brush e sospesi in Roche Cell Collection Medium e PreservCyt[®] Solution sono stati validati per l'uso con il test **cobas**[®] 4800 HPV.

Attenersi alle istruzioni del produttore per la raccolta dei campioni.

B. Trasporto dei campioni

I campioni raccolti in Roche Cell Collection Medium, PreservCyt[®] Solution e SurePath™ Preservative Fluid possono essere trasportati a 2-30°C. Il trasporto dei campioni HPV deve avvenire nel pieno rispetto di tutte le normative vigenti a livello locale, nazionale e regionale per il trasporto di agenti eziologici³³.

C. Conservazione dei campioni

I campioni raccolti nei terreni di trasporto Roche Cell Collection Medium e PreservCyt[®] Solution possono essere conservati a 2-30°C per un massimo di 6 mesi dopo la data del prelievo. I campioni cervicali raccolti in SurePath™ Preservative Fluid possono essere conservati a 2-8°C per un massimo di 6 mesi o a 15-30°C per un massimo di 6 settimane dopo la data del prelievo, a condizione che il cross-linking indotto dalla matrice SurePath™ Preservative Fluid venga invertito mediante trattamento con **cobas**[®] Sample Prep Buffer prima dell'esecuzione dei test HPV.

ISTRUZIONI PER L'USO

Istruzioni per la sospensione dei campioni

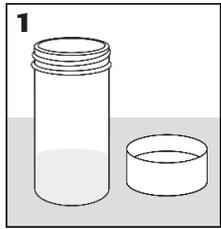
Tamponi Copan FLOQSwabs® per autoprelievo vaginale (552C.80)

Istruzioni per la manipolazione dei campioni che vengono autoprelevati con i tamponi Copan FLOQSwabs® per l'autoprelievo vaginale (552C.80) e quindi analizzati con il test **cobas**® 4800 HPV o **cobas**® HPV.

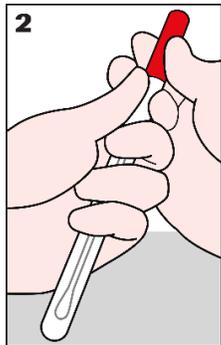
Dopo l'autoprelievo, il campione deve essere immerso nel terreno di trasporto.

- **Leggere tutte le istruzioni prima di iniziare la sospensione del campione.**
- Per il prelievo del campione, attenersi alle Istruzioni per l'uso fornite dal produttore del dispositivo per il prelievo.
- Dopo aver eseguito l'autoprelievo, attenersi alle istruzioni seguenti per la conservazione del campione:

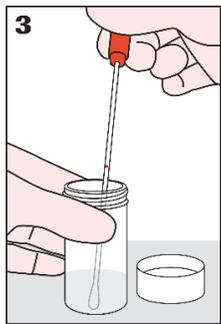
Maneggiare con cura il campione raccolto.



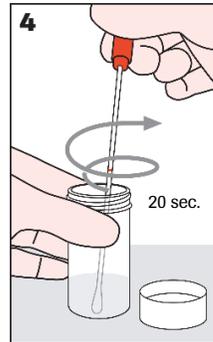
1. Stappare **delicatamente** il contenitore con il terreno di trasporto e appoggiarlo su una superficie piana e stabile.



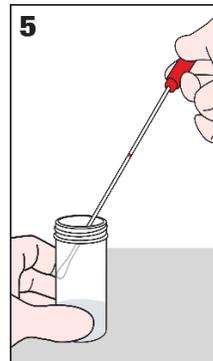
2. **Rimuovere lentamente** il tappo dal FLOQSwab per estrarre il bastoncino dalla provetta. **Mentre si estrae il FLOQSwab, cercare di toccare il meno possibile le pareti interne della provetta.**



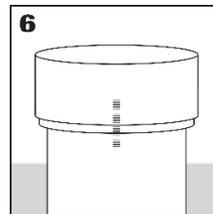
3. Con una mano **afferrare** il contenitore e, con l'altra, inserire il FLOQSwab nel contenitore fino ad **immergere completamente la punta del bastoncino nel terreno di trasporto** e a **toccare il fondo** del contenitore con la punta.



4. Continuando a tenere in mano il contenitore, **ruotare il FLOQSwab contro la parete interna del contenitore per 20 secondi, facendo attenzione che il bastoncino sia completamente immerso** nel terreno di trasporto. Evitare di schizzare.



5. Estrarre delicatamente il FLOQSwab facendolo risalire lungo la parete interna del contenitore, finché la punta non è più immersa nel terreno di trasporto. **Premere la punta contro la parete interna del contenitore per favorire la fuoriuscita del liquido** dal bastoncino. Inserire il FLOQSwab nella provetta e gettarla via.



6. **Richiudere** il contenitore e stringere il tappo fino ad **unire o sovrapporre leggermente le linee sul tappo e sul contenitore**, per evitare che il contenuto fuoriesca. Conservare in posizione verticale.

7. A questo punto è possibile analizzare il campione con il test **cobas**® 4800 HPV o **cobas**® HPV.

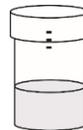
Glossario



FLOQSwab/tampone: il dispositivo per autoprelievo utilizzato per prelevare il campione.



Provetta: un contenitore protettivo nel quale si trova il dispositivo per autoprelievo, che può essere utilizzato per conservare provvisoriamente il dispositivo dopo il prelievo del campione.



Contenitore: un contenitore con 20 ml di soluzione limpida. Il campione raccolto deve essere trasferito in questo contenitore, che a sua volta deve essere inviato al laboratorio per le analisi.

Terreno di trasporto: il nome con cui viene indicato il liquido nel contenitore.

Istruzioni per la sospensione dei campioni

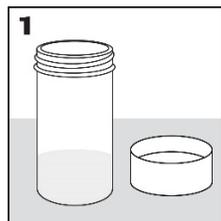
Rovers Evalyn® Brush

Istruzioni per la manipolazione dei campioni autoprelevati con Rovers Evalyn® Brush e analizzati con i test **cobas**® 4800 HPV o **cobas**® HPV.

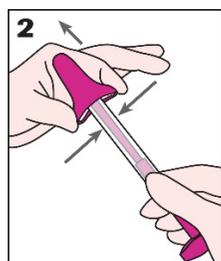
Dopo l'autoprelievo, il campione deve essere immerso nel terreno di trasporto.

- **Leggere tutte le istruzioni prima di iniziare la sospensione del campione.**
- Per il prelievo del campione, attenersi alle Istruzioni per l'uso fornite dal produttore del dispositivo per il prelievo.
- Dopo aver eseguito l'autoprelievo, attenersi alle istruzioni seguenti per la conservazione del campione:

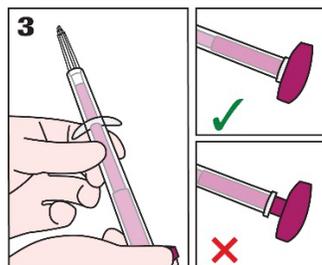
Maneggiare con cura il campione raccolto.



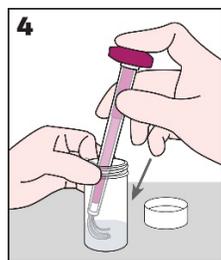
1. Stappare **delicatamente** il contenitore con il terreno di trasporto e appoggiarlo su una superficie piana e stabile.



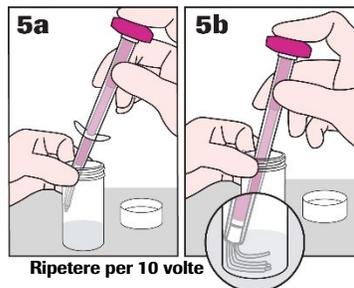
2. Rimuovere il cappuccio rosa dal dispositivo Evalyn Brush **facendo attenzione a non toccare l'estremità scoperta.**



3. Premere lo stantuffo rosa finché non scatta in posizione, scoprendo il pennello bianco. **Fare in modo che il pennello scoperto non entri a contatto con nulla** (dita, superfici ecc.).



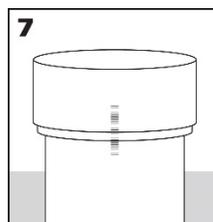
4. Con una mano **afferrare** il contenitore e, con l'altra, inserire il pennello bianco nel contenitore in modo che **le setole siano completamente immerse nel terreno di trasporto e le alette si trovino al di sotto dell'apertura del contenitore.**



5. Continuando a tenere in mano il contenitore, immergere e **sfregare energicamente il pennello bianco contro il fondo e la parete interna** del contenitore per **10 volte, per ottimizzare il rilascio del campione.** Evitare di schizzare.



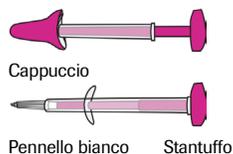
6. Rimuovere il pennello bianco dal contenitore facendolo strisciare delicatamente lungo la parete interna della provetta principale, fino a quando non sarà più immerso nel terreno di trasporto. **Tenere premuto il pennello contro la parete interna del contenitore per favorire la fuoriuscita del liquido** dal pennello. Reinserire il dispositivo Evalyn Brush nella sua confezione per smaltirlo.



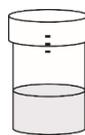
7. **Richiudere** il contenitore e stringere il tappo fino ad **unire o sovrapporre leggermente le linee sul tappo e sul contenitore**, per evitare che il contenuto fuoriesca. Conservare in posizione verticale.

8. A questo punto è possibile analizzare il campione con il test **cobas**® 4800 HPV o **cobas**® HPV.

Glossario



Evalyn Brush: il dispositivo per autoprelievo utilizzato per prelevare il campione.



Contenitore: un contenitore con 20 ml di soluzione limpida. Il campione raccolto deve essere trasferito in questo contenitore, che a sua volta deve essere inviato al laboratorio per le analisi.

Terreno di trasporto: il nome con cui viene indicato il liquido nel contenitore.

NOTA: tutti i reagenti, ad eccezione di HPV MMX e HPV Mg/Mn, devono raggiungere la temperatura ambiente prima del loro caricamento sul **cobas**® x 480 instrument. I reagenti HPV MMX e HPV Mg/Mn dovranno essere prelevati direttamente dal frigorifero (dove sono conservati a 2-8°C) e potranno raggiungere la temperatura ambiente direttamente sul **cobas**® x 480 instrument prima dell'uso.

NOTA: i campioni raccolti in Roche Cell Collection Medium, PreservCyt® Solution e SurePath™ Preservative Fluid devono raggiungere la temperatura ambiente prima di essere caricati sul **cobas**® x 480 instrument.

NOTA: per istruzioni operative dettagliate, consultare l'Assistenza Utente del **cobas**® 4800 System.

Dimensioni della seduta:

Il **cobas**[®] 4800 System supporta l'esecuzione del test **cobas**[®] 4800 HPV con sedute costituite da un minimo di 1 e un massimo di 94 campioni più i necessari controlli (massimo 96 saggi per seduta). Ogni confezione di **cobas**[®] 4800 System Sample Preparation Kit, **cobas**[®] 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit e **cobas**[®] 4800 System Wash Buffer Kit contiene reagenti sufficienti per eseguire 10 sedute da 24 test (240 test per kit) o da 96 test (960 test per kit). Ogni confezione di **cobas**[®] 4800 HPV Amplification/Detection Kit contiene reagenti sufficienti per eseguire 10 sedute da 24 test (240 test per kit) o da 96 test (960 test per kit). È possibile utilizzare più kit di test da 240 per ottimizzare l'uso dei reagenti per 48 o 72 test. Ogni confezione di **cobas**[®] 4800 HPV Controls Kit contiene reagenti sufficienti per eseguire 10 sedute (10 set per kit) in totale. La dimensione minima di una seduta sul **cobas**[®] 4800 System è di 1 campione più i necessari controlli. Per eseguire ogni seduta di analisi occorrono: un controllo negativo **cobas**[®] 4800 System Negative Control [(-) C] e un controllo positivo **cobas**[®] 4800 HPV Positive Control [HPV (+) C] (vedere la sezione "Controllo di qualità").

Flusso di lavoro:

NOTA: *sebbene non rappresenti un uso ottimale dei reagenti, è possibile utilizzare un System Sample Preparation 960 Test Kit per una seduta composta da 24 campioni e un HPV Amplification/Detection 960 Test Kit per una seduta composta da 24, 48 o 72 campioni.*

È possibile eseguire il test **cobas**[®] 4800 HPV scegliendo uno dei due flussi di lavoro disponibili nel software **cobas**[®] 4800: "Full Workflow" o "Recovery Workflow".

Flusso di lavoro completo per HPV (Full Workflow):

Il flusso di lavoro completo per HPV prevede la preparazione dei campioni sul **cobas**[®] x 480 instrument e, a seguire, l'amplificazione/rilevazione sul **cobas**[®] z 480 analyzer. Le dimensioni della seduta possono essere di 24 test (da 1 a 22 campioni più 2 controlli) o di 96 test (da 1 a 94 campioni più 2 controlli). Per ulteriori informazioni fare riferimento alla sezione "Esecuzione di un flusso di lavoro completo", più avanti, e all'Assistenza Utente del **cobas**[®] 4800 System.

Flusso di lavoro di recupero per HPV (Recovery Workflow):

Il flusso di lavoro di recupero per HPV prevede l'allestimento manuale della piastra per PCR utilizzando l'eluato ottenuto dalla piastra a pozzetti profondi processata e, a seguire, l'amplificazione/rilevazione sul **cobas**[®] z 480 analyzer. Per ulteriori informazioni fare riferimento alla sezione "Esecuzione di un flusso di lavoro di recupero", più avanti, e all'Assistenza Utente del **cobas**[®] 4800 System.

Campioni

I seguenti tipi di campioni possono essere analizzati con il test **cobas**[®] 4800 HPV:

- Campioni cervicali in Roche Cell Collection Medium
- Campioni cervicali in PreservCyt[®] Solution
- Campioni cervicali in SurePath[™] Preservative Fluid (vedere la sezione relativa al trattamento dei campioni primari in Surepath[™])
- Campioni vaginali autoprelevati con FLOQSwab[®] 552C.80 e sospesi in Roche Cell Collection Medium
- Campioni vaginali autoprelevati con FLOQSwab[®] 552C.80 e sospesi in PreservCyt[®] Solution
- Campioni vaginali autoprelevati con Evalyn[®] Brush e sospesi in Roche Cell Collection Medium
- Campioni vaginali autoprelevati con Evalyn[®] Brush e sospesi in PreservCyt[®] Solution

I campioni raccolti in Roche Cell Collection Medium e PreservCyt[®] Solution possono essere analizzati sullo strumento **cobas**[®] x 480 direttamente nei loro contenitori primari (provvisi di codice a barre) oppure in provette da 13 ml a fondo tondo (provviste di codice a barre). I campioni in SurePath[™] devono essere trasferiti nelle provette da 13 ml a fondo tondo (provviste di codice a barre) per poter essere trattati (vedere la sezione Trattamento dei campioni nei contenitori primari SurePath[™]) e analizzati sullo strumento **cobas**[®] x 480. Fare riferimento all'Assistenza Utente del **cobas**[®] 4800 System per conoscere le corrette procedure per i codici a barre e consultare un elenco dei codici a barre supportati dal **cobas**[®] 4800 System.

NOTA: *i campioni in SurePath[™] devono essere trattati con cobas[®] Sample Prep Buffer per invertire il cross-linking indotto dalla matrice prima di eseguire i test HPV sul cobas[®] 4800 System.*

Trattamento dei campioni nei contenitori primari SurePath[™] con cobas[®] Sample Prep Buffer per l'inversione del cross-linking indotto dalla matrice

NOTA: *servono codici a barre termoresistenti per le provette utilizzate nell'inversione del cross-linking indotto dalla matrice (vedere la sezione Materiali e strumenti opzionali).*

NOTA: *è consigliabile eseguire i passaggi B, C, G e H in una cappa biologica per ridurre al minimo la contaminazione crociata.*

- Preparare una provetta da 13 ml a fondo tondo con etichetta del codice a barre, aggiungendo 0,5 ml di **cobas**[®] Sample Prep Buffer per ogni campione in SurePath[™] da analizzare.
Un flacone aperto di **cobas**[®] Sample Prep Buffer (CSPB) può essere conservato a temperatura ambiente (15-30°C) per un massimo di 21 giorni e per un massimo di 4 sedute separate nel trattamento preanalitico dei campioni in SurePath[™].
- Agitare in vortex i campioni in SurePath[™] per 10 secondi prima di trasferirli. Trasferire 0,5 ml di ogni campione in SurePath[™] in una provetta da 13 ml a fondo tondo preparata al passaggio A. Ritappare ogni provetta prima di passare alla successiva. Sostituire sempre il puntale della pipetta per ogni campione.
- Agitare la provetta in vortex per 1 secondo.
- Trasferire le provette nei blocchi riscaldanti a 120°C (vedere la sezione Materiali e strumenti opzionali). È possibile trattare fino a 48 provette per batch.
- Riscaldare per 20 minuti.
- Terminato il riscaldamento, spostare le provette su un rack di raccolta e lasciarle raffreddare a temperatura ambiente per 10 minuti.
- Agitare ogni provetta in vortex per 5 secondi.
- Trasferire le provette su dei rack per campioni **cobas**[®] 4800 con 24 posizioni, rimuovere i tappi ed eseguire i test HPV sul **cobas**[®] 4800 System.

I campioni in SurePath™ trattati con **cobas**® Sample Prep Buffer possono essere conservati e sottoposti ai test HPV in un secondo tempo, ad esempio se prima è necessario effettuare una valutazione citologica. Attenersi alla seguente procedura:

- A. Seguire la procedura di trattamento descritta fino al passaggio G.
- B. Conservare le provette contenenti i campioni in SurePath™ già sottoposti al trattamento con **cobas**® Sample Prep Buffer a 2-30°C per un massimo di 4 settimane prima di eseguire i test HPV sul **cobas**® 4800 System.

NOTA: *i contenitori primari con Roche Cell Collection Medium e PreservCyt® Solution devono contenere un volume minimo di 3,0 ml. Quando si utilizzano le provette secondarie da 13 ml a fondo tondo, il volume minimo è di 1,0 ml e il volume massimo è di 10 ml.*

NOTA: *utilizzare solo Roche Cell Collection Medium, PreservCyt® Solution e SurePath™ Preservative Fluid per la raccolta dei campioni cervicali da analizzare con il test cobas® 4800 HPV. Il test cobas® 4800 HPV non è stato validato con altri tipi di terreni. L'uso di altri terreni con il test cobas® 4800 HPV potrebbe generare risultati falsi negativi, falsi positivi e/o non validi.*

NOTA: *per evitare la contaminazione crociata dei campioni trattati, è necessario utilizzare altri tappi (vedere la sezione Materiali necessari ma non forniti) per richiudere i campioni dopo il trattamento. Richiudere stringendo bene i tappi. Conservare e spedire le provette in posizione verticale.*

NOTA: *potrebbe essere necessario aliquotare i campioni nelle provette da 13 ml a fondo tondo, opportunamente provviste di codice a barre, per eseguire l'estrazione sul cobas® x 480 instrument. Per trasferire i campioni, utilizzare pipettatori con puntali dotati di barriera antiaerosol o ad erogazione positiva. Per evitare la contaminazione crociata dei campioni trattati, è necessario utilizzare altri tappi di un colore alternativo (neutro, vedere Materiali necessari ma non forniti) per queste provette e ritappare i campioni dopo il trattamento.*

NOTA: *prestare attenzione durante il trasferimento dei campioni dai contenitori primari ai tubi da 13 ml a fondo tondo. Miscelare i campioni primari in vortex prima di trasferirli. Sostituire i puntali delle pipette dopo ogni campione.*

NOTA: *non trattare i campioni se hanno tracce di sangue visibili o sono di colore marrone scuro.*

Una singola può includere qualsiasi combinazione di campioni (Roche Cell Collection Medium, PreservCyt® Solution e/o SurePath™ Preservative Fluid) e ogni campione può essere analizzato con i test secondari HPV High Risk o HPV High Risk Plus Genotyping.

Flussi di lavoro

Esecuzione di un flusso di lavoro completo:

- A. Il test **cobas**® 4800 HPV può essere utilizzato per analizzare un minimo di 1 e un massimo di 94 campioni più un controllo negativo del **cobas**® 4800 System e un controllo positivo **cobas**® 4800 HPV.
- B. Eseguire l'avvio del sistema e le procedure di manutenzione seguendo le istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del **cobas**® 4800 System.
- C. Avviare una nuova seduta facendo clic sul pulsante "New run".
- D. Nella finestra "Selection test" selezionare il tipo di flusso di lavoro "Full" e il test "HPV".
- E. Specificare il nome della seduta o accettare il nome predefinito, quindi fare clic su "OK" per proseguire.
- F. Seguire la procedura guidata per caricare i campioni.

NOTA: *è possibile caricare i campioni in provette primarie o secondarie provviste di codice a barre seguendo qualsiasi ordine.*

NOTA: *se si utilizzano i contenitori primari con Roche Cell Collection Medium o PreservCyt® Solution per il trattamento dei campioni, agitare i campioni in vortex prima di caricarli.*

- G. Selezionare un tipo per ogni campione.
 - Scegliere "PC" per ordinare i campioni conservati in Roche Cell Collection Medium o in PreservCyt® Solution.
 - Scegliere "SP" per i campioni conservati in SurePath™ Preservative Fluid.

NOTA: *è possibile utilizzare il software dello strumento per contrassegnare gli ordini dei test in modo tale da identificare i campioni autoprelevati. Si incoraggiano gli utenti a farlo. Per istruzioni su questo argomento, consultare l'Assistenza Utente del cobas® 4800 System.*

- H. Selezionare il risultato richiesto per ogni campione.
 - Come risultato richiesto selezionare "HPV High Risk Panel", in modo da generare un report contenente uno qualsiasi, o una combinazione qualsiasi, dei tipi di HPV ad alto rischio (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68).
 - Come risultato richiesto scegliere "HPV High Risk Panel Plus Genotyping", in modo da generare un report contenente uno qualsiasi, o una combinazione qualsiasi, dei tipi di HPV ad alto rischio (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) e, a parte, i tipi di HPV ad alto rischio 16 e 18.

I. Seguire la procedura guidata per caricare tutto il materiale di consumo.

J. Seguire la procedura guidata per caricare tutti i reagenti.

NOTA: *i controlli [HPV (+) C e HPV (-) C] non vengono caricati insieme ai campioni, bensì vengono caricati sul rack per reagenti durante il caricamento dei reagenti. Sia sulla piastra di estrazione che sulla piastra per PCR, due posizioni (A1 e B1) sono riservate rispettivamente ai controlli HPV (+) e (-).*

NOTA: *il cobas® 4800 System ha un orologio interno che calcola il tempo di permanenza dei reagenti sullo strumento. Dopo la scansione del buffer di lavaggio (WB), è necessario completare il caricamento e fare clic sul pulsante "Start" entro 1 ora. Nella scheda "Workplace" compare un cronometro del tempo residuo. Il sistema impedisce l'avvio di una seduta se il tempo è scaduto.*

NOTA: *per garantire un trasferimento accurato delle biglie magnetiche (MGP), miscelare in Vortex o agitare vigorosamente il flacone delle biglie magnetiche prima di versarlo nella vaschetta per reagenti.*

- K. Caricare i reagenti per la preparazione dei campioni (**WB, MGP, EB, SDS e LYS**) nelle vaschette per reagenti con codice a barre utilizzando il metodo “scan-scan-pour-place”:
- Scansionare il codice a barre dei flaconi di reagente
 - Scansionare il codice a barre delle vaschette per reagenti
 - Versare il reagente nella vaschetta
 - Collocare la vaschetta piena di reagente nella posizione prevista sul rack per reagenti
- L. Le vaschette per reagenti sono disponibili in due dimensioni: 200 ml e 50 ml. Seguire la procedura guidata per selezionare la dimensione corretta delle vaschette per reagenti. Il codice a barre delle vaschette per reagenti deve essere rivolto verso il lato destro del rack.

NOTA: *i reagenti di amplificazione/rilevazione (HPV MMX e HPV Mg/Mn), i controlli [HPV (+) C e (-) C] e il reagente PK vengono caricati direttamente sul rack per reagenti e vengono scansionati automaticamente dal cobas® x 480 instrument.*

NOTA: *tutti i reagenti e tutte le vaschette per reagenti sono monouso e sono provvisti di codice a barre. Il software cobas® 4800 tiene traccia dell'uso dei reagenti e delle vaschette e rifiuta i reagenti e le vaschette già utilizzati. Inoltre il software verifica che i reagenti caricati sullo strumento siano sufficienti.*

NOTA: *il software cobas® 4800 tiene traccia della data di scadenza di tutti i reagenti. I reagenti che hanno oltrepassato la data di scadenza non vengono accettati per l'uso sul cobas® 4800 System.*

M. Avviare la preparazione dei campioni facendo clic su “Start Run”.

N. Al termine della preparazione dei campioni, fare clic su “*Unload” per scaricare il rack per piastre.

** A questo punto è possibile verificare lo stato di preparazione dei campioni prima di fare clic su “Unload”. Consultare l'Assistenza Utente del cobas® 4800 System.

O. Seguire le istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del cobas® 4800 System per sigillare la piastra per PCR, trasferirla sull'analizzatore cobas® z 480 e avviare la seduta di amplificazione e rilevazione.

NOTA: *il cobas® 4800 System ha un orologio interno che conta il tempo trascorso dall'aggiunta dei campioni preparati nella soluzione di lavoro Master Mix. L'amplificazione e la rilevazione devono iniziare il prima possibile e comunque non oltre 90 minuti dopo la fine della seduta sul cobas® x 480 instrument. Nella scheda “Workplace” compare un cronometro del tempo residuo.*

P. Al termine della seduta di amplificazione e rilevazione, rimuovere la piastra per PCR dal cobas® z 480 analyzer.

Q. Seguire le istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del cobas® 4800 System per rivedere e accettare i risultati.

Esecuzione di un flusso di lavoro di recupero

NOTA: *il flusso di lavoro di recupero è disponibile come opzione di emergenza qualora non sia possibile eseguire un flusso di lavoro completo per circostanze al di fuori del controllo dell'utente (ad esempio, un'interruzione della corrente durante una seduta di amplificazione/rilevazione).*

NOTA: *in una seduta di recupero possono essere amplificati/rilevati soltanto i campioni che sono stati preparati correttamente sul cobas® x 480 instrument. Il monitoraggio dei reagenti e del materiale di consumo è limitato durante la seduta di recupero. Poiché la posizione dei campioni non viene registrata durante la seduta di recupero, l'utente dovrà verificare che ogni campione nella piastra per PCR occupi effettivamente la posizione assegnata dal file Recovery Plate Layout Report Work Order. Durante la preparazione della piastra per PCR, prestare la massima attenzione per garantire un allestimento corretto e prevenire eventuali contaminazioni.*

NOTA: *i campioni processati sul cobas® x 480 instrument hanno una stabilità limitata. Devono essere sottoposti ad amplificazione/rilevazione con il flusso di lavoro di recupero entro 24 ore, se conservati tra 2°C e 30°C.*

A. Avviare una seduta di recupero facendo clic sul pulsante “New run”.

B. Nella finestra “Test Selection” selezionare il tipo di flusso di lavoro “Recovery” e il test “HPV”.

C. Specificare il nome della seduta o accettare il nome predefinito, quindi fare clic su “OK” per proseguire.

D. Selezionare una seduta da recuperare.

E. Se si utilizza HPV ASAP v2.1, eseguire la scansione dell'ID della piastra di preparazione ottenuto dal flusso di lavoro completo.

F. Specificare il ID della nuova piastra per PCR.

G. Specificare gli ID relativi a Master Mix e ioni di metallo per tutti i flaconi dei reagenti di amplificazione/rilevazione contenuti nel kit.

H. Preparare la soluzione Master Mix cobas® 4800 HPV:

1. Per un kit da 240 test, aggiungere 240 µl di **HPV Mg/Mn** in un flacone di **HPV MMX** (flacone da 0,5 ml nel kit da 240 test).

2. Per un kit da 960 test, aggiungere 450 µl di **HPV Mg/Mn** in ciascuno dei due flaconi di **HPV MMX** (flaconi da 1,0 ml nel kit da 960 test).

NOTA: *le sedute di recupero devono essere avviate entro 90 minuti dall'aggiunta di HPV Mg/Mn alla soluzione HPV MMX. Nel flusso di lavoro di recupero, il sistema non tiene conto del tempo trascorso dopo l'aggiunta dei campioni preparati alla soluzione di lavoro Master Mix. L'utente finale deve quindi assicurarsi che l'amplificazione e la rilevazione abbiano inizio entro il tempo stabilito.*

I. Miscelare con cura la soluzione di lavoro Master Mix capovolgendo il flacone. Non miscelare in Vortex la soluzione di lavoro Master Mix.

J. Trasferire 25 µl di soluzione di lavoro Master Mix nei pozzetti appropriati della piastra per PCR.

K. Posizionare la piastra di estrazione della seduta da ripetere sulla piastra magnetica indipendente.

L. Trasferire manualmente 25 µl di eluato dai pozzetti della piastra di estrazione ai pozzetti corrispondenti della piastra per PCR. Accertarsi che le posizioni dei pozzetti vengano rispettate (ovvero, l'eluato nel pozzetto A1 della piastra di estrazione deve essere trasferito nel pozzetto A1 della piastra per PCR). Verificare che le biglie magnetiche (MGP) non vengano trascinate sulla piastra per PCR.

M. Seguire le istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del cobas® 4800 System per sigillare la piastra per PCR.

- N. Centrifugare la piastra per PCR utilizzando un rotore con cestello basculante per almeno 5 secondi a 1500 RCF.
- O. Spostare la piastra sul **cobas® z 480 analyzer** e avviare la seduta di amplificazione e rilevazione.
- P. Al termine della seduta di amplificazione e rilevazione, scaricare la piastra per PCR dal **cobas® z 480 analyzer**.
- Q. Seguire le istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del **cobas® 4800 System** per rivedere e accettare i risultati.

Interpretazione dei risultati

NOTA: la validazione di tutti i saggi e di tutte le sedute viene eseguita dal software cobas® 4800.

NOTA: una seduta valida può includere sia risultati validi che risultati non validi.

Nel caso di una seduta valida, i risultati dei campioni vengono interpretati nel modo illustrato nelle Tabelle 1 e 2:

Tabella 1
Interpretazione dei risultati del test cobas® 4800 HPV per quanto riguarda la presenza del DNA di HPV

cobas® 4800 HPV Test	Risultato e interpretazione
Risultato richiesto "HPV High Risk Panel":	
POS HR HPV	HPV HR positivo Il campione è positivo al DNA di uno qualsiasi, o di una combinazione qualsiasi, dei seguenti tipi di HPV ad alto rischio: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.
NEG HR HPV	HPV HR negativo* Il DNA dei tipi di HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68 non è rilevabile o è inferiore alla soglia prestabilita.
Invalid HR HPV	HPV HR non valido I risultati non sono validi per l'HPV ad alto rischio. Per i campioni in PreservCyt®, il campione originale deve essere analizzato di nuovo, ma non più di due volte, per ottenere risultati validi. Se i risultati continuano a non essere validi, è opportuno reperire un nuovo campione. Per i campioni in SurePath™, il campione originale deve essere analizzato di nuovo se il volume residuo è sufficiente. Se i risultati continuano a non essere validi, è opportuno reperire un nuovo campione.
Failed	Nessun risultato per il campione Consultare l'Assistenza Utente del cobas® 4800 System per istruzioni sull'interpretazione dei flag e le azioni consigliate. Il campione originale deve essere analizzato di nuovo per ottenere un risultato valido.
Risultato richiesto "HPV High Risk Panel Plus Genotyping":	
POS Other HR HPV	Altro HPV HR positivo Il campione è positivo al DNA di uno qualsiasi, o di una combinazione qualsiasi, dei seguenti tipi di HPV ad alto rischio: 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.
NEG Other HR HPV	Altro HPV HR negativo* Il DNA dei tipi di HPV 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68 non è rilevabile o è inferiore alla soglia prestabilita.
Invalid Other HR HPV	Altro HPV HR non valido Il risultato non è valido per altro tipo di HPV ad alto rischio. Per i campioni in PreservCyt®, il campione originale deve essere analizzato di nuovo, ma non più di due volte, per ottenere risultati validi. Se i risultati continuano a non essere validi, è opportuno reperire un nuovo campione. Per i campioni in SurePath™, il campione originale deve essere analizzato di nuovo se il volume residuo è sufficiente. Se i risultati continuano a non essere validi, è opportuno reperire un nuovo campione.
POS HPV16	HPV16 positivo Il campione è positivo al DNA di HPV genotipo 16.
NEG HPV16	HPV16 negativo* Il DNA di HPV genotipo 16 non è rilevabile o è inferiore alla soglia prestabilita.
Invalid HPV16	HPV16 non valido Il risultato per l'HPV16 non è valido. Per i campioni in PreservCyt®, il campione originale deve essere analizzato di nuovo, ma non più di due volte, per ottenere risultati validi. Se i risultati continuano a non essere validi, è opportuno reperire un nuovo campione. Per i campioni in SurePath™, il campione originale deve essere analizzato di nuovo se il volume residuo è sufficiente. Se i risultati continuano a non essere validi, è opportuno reperire un nuovo campione.
POS HPV18	HPV18 positivo Il campione è positivo al DNA di HPV genotipo 18.
NEG HPV18	HPV18 negativo* Il DNA di HPV genotipo 18 non è rilevabile o è inferiore alla soglia prestabilita.
Invalid HPV18	HPV18 non valido Il risultato per l'HPV18 non è valido. Per i campioni in PreservCyt®, il campione originale deve essere analizzato di nuovo, ma non più di due volte, per ottenere risultati validi. Se i risultati continuano a non essere validi, è opportuno reperire un nuovo campione. Per i campioni in SurePath™, il campione originale deve essere analizzato di nuovo se il volume residuo è sufficiente. Se i risultati continuano a non essere validi, è opportuno reperire un nuovo campione.
Failed	Nessun risultato per il campione Consultare l'Assistenza Utente del cobas® 4800 System per istruzioni sull'interpretazione dei flag e le azioni consigliate. Il campione originale deve essere analizzato di nuovo per ottenere risultati validi.

*Un risultato negativo non preclude la presenza di un'infezione da HPV in quanto i risultati dipendono dalla precisione del prelievo e dell'analisi del campione, dall'assenza di inibitori e dalla presenza di una quantità di DNA di HPV rilevabile.

Tabella 2
Interpretazione dei risultati del test cobas® 4800 HPV per pazienti con anomalie citologiche

Risultati	Interpretazione
NEG Other HR HPV*, NEG HPV16, NEG HPV18	Basse probabilità che venga rilevata una neoplasia ≥ CIN2.
POS Other HR HPV*, NEG HPV16, NEG HPV18	Maggiori probabilità che venga rilevata una neoplasia ≥ CIN2 durante la colposcopia.
POS HPV16 e/o POS HPV18	Altissime probabilità di rilevare una neoplasia sottostante ≥ CIN2 in fase di colposcopia ^{34,35} .

*DNA di altri tipi di HPV ad alto rischio: 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

NOTA: i risultati HPV-negativi non devono dissuadere le pazienti dal sottoporsi alla colposcopia.

NOTA: oltre ai risultati descritti nelle tabelle precedenti, è possibile che si ottengano risultati non validi per una o più combinazioni. Nel caso si ottenga, ad esempio, un risultato come:

Other HR HPV NEG, HPV16 POS, HPV18 Invalid

I risultati positivi e negativi dovranno essere interpretati come descritto nella Tabella 1. In questo esempio, i risultati per HPV 18 non sono validi. Il campione originale deve essere analizzato di nuovo, ma non più di due volte, per ottenere risultati validi. Se i risultati continuano a non essere validi, è opportuno reperire un nuovo campione.

NOTA: i risultati negativi indicano che il DNA di HPV è presente in concentrazioni che non sono rilevabili o che sono inferiori al limite soglia.

NOTA: i risultati positivi al test indicano la presenza di uno o più tipi ad alto rischio, ma dal momento che le pazienti presentano spesso infezioni concomitanti causate da tipi a basso rischio, non è esclusa la presenza di tipi a basso rischio in caso di infezioni miste.

NOTA: i risultati del test dovrebbero essere interpretati contestualmente alle altre informazioni raccolte attraverso il quadro clinico e l'anamnesi della paziente.

ELENCO DEI FLAG DEI RISULTATI

La tabella seguente elenca i flag più comuni per il test cobas® 4800 HPV che sono significativi per l'interpretazione dei risultati. Per un elenco completo dei flag, consultare l'Assistenza Utente del cobas® 4800 System.

Tabella 3
Elenco di flag per il test cobas® 4800 HPV

Codice flag	Descrizione	Azione consigliata
R20	Il controllo positivo non è valido.	I valori del controllo positivo non sono validi. 1. Ripetere l'intera seduta utilizzando reagenti nuovi. 2. Se il problema persiste, contattare l'assistenza tecnica Roche.
R21	Il controllo negativo non è valido.	I valori del controllo negativo non sono validi. Per evitare il carryover, seguire le buone pratiche di laboratorio. 1. Ripetere l'intera seduta utilizzando reagenti nuovi. 2. Se il problema persiste, contattare l'assistenza tecnica Roche.
X3	Errore: rilevato coagulo. Il campione non è stato analizzato.	Verificare che i campioni siano stati manipolati conformemente alla descrizione del flusso di lavoro. 1. Verificare se il campione contiene coaguli. 2. Eseguire la rerun del campione.
X4	Errore: errore di pipettamento. Il campione non è stato analizzato.	La causa più probabile è che il volume del campione è insufficiente oppure si è verificato un errore meccanico durante il pipettamento. 1. Verificare che il volume del campione sia sufficiente. 2. Verificare che la piastra di espulsione puntali sia nella posizione corretta. 3. Eseguire la rerun del campione.

CONTROLLO DI QUALITÀ

In ogni seduta viene incluso un set di controlli positivi e negativi per il test **cobas**[®] 4800 HPV. Per ogni seduta è necessario ottenere risultati validi sia per il controllo positivo che per il controllo negativo, affinché il software **cobas**[®] 4800 possa visualizzare i risultati refertabili del test **cobas**[®] 4800 HPV relativamente alla seduta.

Controllo positivo

Il risultato del controllo HPV (+) deve essere "Valid". Nel caso in cui il controllo HPV (+) producesse costantemente risultati non validi, rivolgersi all'ufficio Roche locale per richiedere assistenza tecnica.

Controllo negativo

Il risultato del controllo HPV (-) deve essere "Valid". Nel caso in cui il controllo HPV (-) producesse costantemente risultati non validi, rivolgersi all'ufficio Roche locale per richiedere assistenza tecnica.

PRECAUZIONI PROCEDURALI

Per qualsiasi procedura di analisi è importante eseguire i test attenendosi alla buona prassi di laboratorio. Data l'elevata sensibilità analitica di questo test, prestare attenzione per evitare la contaminazione di reagenti e miscele di amplificazione.

LIMITI DELLA PROCEDURA

1. Il test **cobas**[®] 4800 HPV rileva il DNA dei tipi di HPV ad alto rischio 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68. Il test non rileva il DNA dei tipi di HPV a basso rischio (ad esempio 6, 11, 42, 43, 44) dal momento che non è riconosciuta l'utilità clinica dei test per questi tipi di HPV a basso rischio³⁶.
2. Il test **cobas**[®] 4800 HPV per la rilevazione dei tipi di Papillomavirus umano 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68 non è idoneo alla valutazione di sospetti abusi sessuali.
3. Non sono state sufficientemente studiate le prestazioni del test **cobas**[®] 4800 HPV per i soggetti vaccinati contro l'HPV³⁷.
4. La prevalenza delle infezioni da HPV in una popolazione potrebbe condizionare il rendimento del test. I valori predittivi positivi tendono a diminuire quando si sottopongono al test popolazioni con prevalenza bassa o individui non a rischio di infezione.
5. L'infezione da HPV non è un indicatore di citologia HSIL o di lesione sottostante di alto grado (CIN), né implica il futuro sviluppo di lesioni CIN2-3 o cancro. La maggioranza delle donne infettate da uno o più tipi di HPV non sviluppa lesioni CIN2-3 o cancro.
6. Un risultato negativo ai tipi di HPV ad alto rischio non esclude la possibilità di futura citologia HSIL o sottostante lesione CIN2-3 o cancro.
7. Analizzare soltanto il tipo di campione indicato. Il test **cobas**[®] 4800 HPV è approvato per l'uso esclusivamente con:
 - Campioni cervicali raccolti in Roche Cell Collection Medium
 - Campioni cervicali raccolti in PreservCyt[®] Solution
 - Campioni cervicali raccolti in SurePath[™] Preservative Fluid
 - Campioni vaginali raccolti con i tamponi FLOQSwab[®] 552C.80 e sospesi in Roche Cell Collection Medium
 - Campioni vaginali raccolti con i tamponi FLOQSwab[®] 552C.80 e sospesi in PreservCyt[®] Solution
 - Campioni vaginali raccolti con Evalyn[®] Brush e sospesi in Roche Cell Collection Medium
 - Campioni vaginali raccolti con Evalyn[®] Brush e sospesi in PreservCyt[®] Solution

Non sono state validate le prestazioni del test con altri dispositivi per il prelievo e/o terreni di trasporto. L'uso di altri dispositivi per il prelievo e/o terreni di trasporto potrebbe causare risultati falsi positivi, falsi negativi o non validi.

8. La rilevazione dei tipi di HPV ad alto rischio dipende dal numero di copie presenti nel campione e può essere influenzata dal metodo di prelievo del campione, da fattori legati al paziente, dallo stadio dell'infezione e dalla presenza di sostanze interferenti.
9. L'amplificazione e la rilevazione della beta-globina è inclusa nel test **cobas**[®] 4800 HPV con lo scopo di differenziare i campioni HPV-negativi dai campioni che non emettono un segnale HPV perché la massa di cellule nel campione è insufficiente. Il **cobas**[®] 4800 System identifica come negativi validi soltanto i campioni HPV-negativi che producono un segnale della beta-globina valido entro l'intervallo predefinito.
10. L'affidabilità dei risultati dipende dall'adeguatezza delle procedure di prelievo, trasporto, conservazione e trattamento dei campioni. Attenersi alle procedure descritte in questo foglio illustrativo e nell'Assistenza Utente del **cobas**[®] 4800 System.
11. Sebbene l'aggiunta dell'enzima AmpErase alla soluzione Master Mix per il test **cobas**[®] 4800 HPV garantisca l'amplificazione selettiva del DNA target, è necessario evitare la contaminazione dei reagenti attenendosi scrupolosamente alla buona prassi di laboratorio e alle procedure descritte nel presente foglio illustrativo.
12. Questo prodotto deve essere utilizzato solo da personale adeguatamente addestrato nelle tecniche PCR e nell'uso del **cobas**[®] 4800 System.
13. Sono stati validati per l'uso con questo prodotto soltanto il **cobas**[®] x 480 instrument e il **cobas**[®] z 480 analyzer. Non è possibile utilizzare altri strumenti per la preparazione dei campioni o altri sistemi PCR con questo prodotto.
14. Viste le differenze intrinseche tra le tecnologie, è consigliabile che gli utenti, prima di passare da una tecnologia a un'altra, svolgano studi sulla correlazione tra i metodi in laboratorio allo scopo di qualificare tali differenze.
15. Non sono stati studiati gli effetti di altre potenziali variabili, ad esempio perdite vaginali, uso di tamponi, lavande e altre variabili inerenti la raccolta dei campioni.
16. Anche se rare, le mutazioni nella regione altamente conservata del DNA genomico del Papillomavirus umano coperta dai primer e/o dalle sonde del test **cobas**[®] 4800 HPV possono ostacolare la corretta identificazione del DNA virale.
17. L'eventuale presenza di inibitori della PCR può indurre risultati falsi negativi o non validi.

18. Nei campioni cervicali è spesso presente sangue intero a livelli rilevabili che portano ad una colorazione rosa o marrone chiaro. Questi campioni possono essere analizzati normalmente sul **cobas**[®] 4800 System. Se il sangue intero è presente con concentrazioni superiori al 2% (colorazione tra il rosso scuro e il marrone) in Roche Cell Collection Medium o PreservCyt[®] Solution, oppure con concentrazioni superiori al 4% in SurePath[™] Preservative Fluid dopo il trattamento con **cobas**[®] Sample Prep Buffer, probabilmente si otterranno risultati falsi negativi. Per ulteriori dettagli, vedere i risultati relativi all'interferenza.
19. L'uso dell'umidificatore vaginale Replens[®] è stato associato a risultati falsi negativi con SurePath[™] Preservative Fluid.
20. L'uso dei prodotti RepHresh[®] per l'igiene intima femminile è stato associato a risultati falsi-negativi con Roche Cell Collection Medium e PreservCyt[®] Solution
21. Il trattamento con acido acetico glaciale (GAA) per rimuovere i globuli rossi dai campioni raccolti in Roche Cell Collection Medium, PreservCyt[®] o SurePath[™] non è una procedura validata con il test **cobas**[®] 4800 HPV. Eventuali trattamenti GAA con il test **cobas**[®] 4800 HPV dovranno essere validati svolgendo i necessari test in laboratorio.

PRESTAZIONI CLINICHE CON I CAMPIONI CLINICI

Confronto del rendimento rispetto ad un test comparativo per HPV con marchio CE

Eseguito uno screening di routine del carcinoma cervicale su un gruppo di donne a partire dai 21 anni di età con citologia ASCUS, è stato possibile determinare la sensibilità clinica e la specificità rispetto allo stadio della patologia (\geq CIN2) sia per il test **cobas**[®] 4800 HPV, sia per un test comparativo per HPV con marchio CE³⁸. Tutti i test sono stati eseguiti su campioni cervicali in PreservCyt[®] Solution. In totale 1578 pazienti con un risultato citologico iniziale ASCUS sono state sottoposte a colposcopia e hanno ottenuto risultati validi sia con il test HPV che con le biopsie cervicali. Lo stadio della malattia nelle pazienti è stato accertato con una valutazione centrale della patologia (Central Pathology Review, CPR) basata sui campioni biotipici ottenuti in sede di colposcopia. I risultati della popolazione con citologia ASCUS sono riportati nella Tabella 4 e indicano che il test **cobas**[®] 4800 HPV e il test comparativo hanno un rendimento paragonabile.

Tabella 4

Confronto tra il rendimento del test **cobas[®] 4800 HPV e il rendimento del test comparativo per HPV con marchio CE ai fini della diagnosi di \geq CIN2 e \geq CIN3 nella popolazione ASCUS**

	Test cobas [®] 4800 HPV		Test per HPV con marchio CE	
	Stima puntuale	IC 95%	Stima puntuale	IC 95%
\geq CIN2				
Sensibilità (%)	90,0 (72 su 80)	(81,5; 94,8)	87,2 (68 su 78) ¹	(78,0; 92,9)
Specificità (%)	70,5 (1056 su 1498)	(68,1; 72,7)	71,1 (1056 su 1485) ²	(68,8; 73,4)
PPV (%)	14,0 (72 su 514)	(12,8; 15,3)	13,7 (68 su 497)	(12,4; 15,1)
NPV (%)	99,2 (1056 su 1064)	(98,6; 99,6)	99,1 (1056 su 1066)	(98,3; 99,5)
Prevalenza (%)	5,1 (80 su 1578)	(4,1; 6,3)	5,0 (78 su 1563)	(4,0; 6,2)
\geq CIN3				
Sensibilità (%)	93,5 (43 su 46)	(82,5; 97,8)	91,3 (42 su 46)	(79,7; 96,6)
Specificità (%)	69,3 (1053 su 1517)	(66,9; 71,5)	70,0 (1062 su 1517)	(67,7; 72,3)
PPV (%)	8,4 (43 su 514)	(7,6; 9,2)	8,5 (42 su 497)	(7,6; 9,4)
NPV (%)	99,7 (1061 su 1064)	(99,2; 99,9)	99,6 (1062 su 1066)	(99,0; 99,9)
Prevalenza (%)	2,9 (43 su 1578)	(2,2; 3,9)	3,0 (46 su 1563)	(2,2; 3,9)

¹ Per due soggetti con diagnosi \geq CIN2 non è stato possibile ottenere risultati con il test comparativo per HPV con marchio CE perché il volume dei campioni era insufficiente a causa della ripetizione dei test.

² Per tredici soggetti con diagnosi $<$ CIN2 non è stato possibile ottenere risultati con il test comparativo per HPV con marchio CE perché il volume dei campioni era insufficiente a causa della ripetizione dei test.

Nelle donne di \geq 30 anni con citologia normale, il rischio di sviluppare una neoplasia cervicale (\geq CIN2) aumenta di 7,29 volte con un risultato del test **cobas**[®] 4800 HPV positivo ai tipi ad alto rischio, rispetto a un risultato del test **cobas**[®] 4800 HPV negativo. La Tabella 5 riporta le stime del rischio relativo e gli intervalli di confidenza al 95% corrispondenti.

Nelle donne di 30 anni o più, il test **cobas**[®] 4800 HPV consente di accertare la presenza o l'assenza dei genotipi 16 e 18 dell'HPV. Il rischio di sviluppare una neoplasia cervicale (\geq CIN2) aumenta di 13,71 volte con un risultato del test **cobas**[®] 4800 HPV positivo per i genotipi HPV16 e/o HPV18, rispetto a un risultato negativo; il rischio aumenta invece di 2,51 volte con un risultato del test **cobas**[®] 4800 HPV positivo per i genotipi HPV16 e/o HPV18 rispetto a un risultato del test **cobas**[®] 4800 HPV positivo per gli altri 12 tipi ad alto rischio. In tutti i casi, il limite inferiore dell'intervallo di confidenza (IC) al 95% è maggiore di 1. Ciò suggerisce un rischio statisticamente maggiore di sviluppare una neoplasia cervicale in presenza di un risultato positivo al test HPV.

Tabella 5
Rischio relativo di sviluppare una patologia cervicale (\geq CIN2 in base alla Central Pathology Review)
in donne \geq 30 anni con citologia normale*

Risultato HPV	Stima del rischio relativo	IC 95%*
Positivo rispetto a Negativo	7,29	(3,99; 22,11)
16+/18+ rispetto a Negativo	13,71	(7,31; 41,92)
16+/18+ rispetto ad Altri 12 HR+	2,51	(1,73; 3,61)
Nota: è stato aggiunto il valore 0,5 a una cella con numero stimato di soggetti ammalati pari a zero in tutti i 1000 campioni bootstrap * L'intervallo di confidenza al 95% è stato calcolato utilizzando il 2,5° e 97,5° percentile dell'intervallo di confidenza calcolato con il metodo bootstrap utilizzando 1000 campioni		

Popolazione NILM (\geq 30 anni) – Valutazione del rendimento

Con riferimento alla popolazione NILM (\geq 30 anni), nella Tabella 6 sono riportati i dati grezzi relativi alle stime della sensibilità e della specificità, insieme agli intervalli di confidenza (IC) al 95% per i risultati positivi ai tipi HPV ad alto rischio rispetto ai risultati negativi per i tipi HPV ad alto rischio.

I valori grezzi di sensibilità e specificità del test per la diagnosi di istologia \geq CIN2 sono rispettivamente: 83,2% (109 su 131), con IC 95%: 75,9%-88,6%; e 60,4% (2492 su 4127), con IC 95%: 58,9%-61,9%. I valori grezzi di sensibilità e specificità del test **cobas**[®] HPV per la diagnosi di istologia \geq CIN3 sono rispettivamente: 90,0% (72 su 80), con IC 95%: 81,5%-94,8%; e 60,0% (2506 su 4178), con IC 95%: 58,5%-61,5%.

Tabella 6
Rendimento del test cobas[®] 4800 HPV nella popolazione NILM (\geq 30 anni) (stime grezze)

Diagnosi CPR	Rendimento	Stima	IC 95%
\geq CIN2	Sensibilità (%)	83,2 (109 su 131)	(75,9, 88,6)
	Specificità (%)	60,4 (2492 su 4127)	(58,9, 61,9)
	PPV (%)	6,3 (109 su 1744)	(5,8, 6,8)
	NPV (%)	99,1 (2492 su 2514)	(98,7, 99,4)
	Prevalenza (%)	3,1 (131 su 4258)	(2,6, 3,6)
\geq CIN3	Sensibilità (%)	90,0 (72 su 80)	(81,5, 94,8)
	Specificità (%)	60,0 (2506 su 4178)	(58,5, 61,5)
	PPV (%)	4,1 (72 su 1744)	(3,8, 4,5)
	NPV (%)	99,7 (2506 su 2514)	(99,4, 99,8)
	Prevalenza (%)	1,9 (80 su 4258)	(1,5, 2,3)

Popolazione totale (≥ 25 anni) – Confronto tra rendimento del test HPV e rendimento dell'esame citologico

È stato valutato il rendimento clinico del test **cobas**[®] HPV e della citologia liquida (PreservCyt[®]) su una popolazione di 40.901 donne di 25 anni o più, indipendentemente dallo stato della citologia (popolazione totale). Nella Tabella 7 sono riportate le stime per la popolazione totale (≥ 25 anni) per quanto riguarda la sensibilità e la specificità del test **cobas**[®] HPV nella diagnosi di citologia ≥ CIN2 e ≥ CIN3³⁸. I valori grezzi di sensibilità del test **cobas**[®] HPV e dell'esame citologico per la diagnosi di ≥ CIN2 sono rispettivamente: 88,2% (380 su 431), con IC 95%: 84,8-94,6; e 51,5% (222 su 431), con IC: 46,8-56,2%. I valori grezzi di sensibilità del test **cobas**[®] HPV e dell'esame citologico per la diagnosi di ≥ CIN3 sono rispettivamente: 92,0% (252 su 274), con IC 95%: 88,1-94,6; e 53,3% (146 su 274), con IC: 47,4-59,1%. Dopo la correzione del bias di verifica, i valori di specificità del test **cobas**[®] HPV e dell'esame citologico per la diagnosi di ≥ CIN2 sono rispettivamente: 90,5% (36343 su 40163), con IC: 90,2-90,8%; e 94,1% (37811 su 40163), con IC: 93,9-94,4%.

Tabella 7
Confronto tra il rendimento del test cobas[®] 4800 HPV e il rendimento dell'esame citologico per la diagnosi di ≥ CIN2 e ≥ CIN3 nella popolazione totale (≥ 25 anni)

	Citologia		Test cobas [®] HPV	
	% (n)	IC 95%	% (n)	IC 95%
≥ CIN2				
Sensibilità	51,5 (222 su 431)	(46,8-56,2)	88,2 (380 su 431)	(84,8-90,9)
Specificità	73,4 (5428 su 7392)	(72,4-74,4)	57,8 (4270 su 7392)	(56,6-58,9)
PPV	10,2 (222 su 2186)	(9,3-11,1)	10,9 (380 su 3502)	(10,4-11,3)
NPV	96,3 (5428 su 5637)	(95,9-96,6)	98,8 (4270 su 4321)	(98,5-99,1)
≥ CIN3				
Sensibilità	53,3 (146 su 274)	(47,4-59,1)	92,0 (252 su 274)	(88,1-94,6)
Specificità	73,0 (5509 su 7549)	(72,0-74,0)	56,9 (4299 su 7549)	(55,8-58,1)
PPV	6,7 (146 su 2186)	(6,0-7,4)	7,2 (252 su 3502)	(6,9-7,5)
NPV	97,7 (5509 su 5637)	(97,4-98,0)	99,5 (4299 su 4321)	(99,2-99,7)

Limite di sensibilità: PreservCyt[®] Solution e SurePath[™] Preservative Fluid

È stato determinato il limite di sensibilità (Limit of Detection, LOD) dei genotipi di HPV ad alto rischio HPV16, HPV18 e HPV31 per il test **cobas**[®] 4800 HPV. I limiti LOD sono stati fissati utilizzando 1) plasmidi di HPV31, HPV16 e HPV18 in un pool di campioni HPV negativi, raccolti in PreservCyt[®] Solution e SurePath[™] Preservative Fluid e 2) linee cellulari HPV-positive SiHa (HPV16) ed HeLa (HPV18) in PreservCyt[®] Solution e SurePath[™] Preservative Fluid, contenenti uno sfondo con linea cellulare HPV-negativa (HCT-15). I plasmidi e le linee cellulari sono stati diluiti fino a concentrazioni inferiori, superiori e uguali ai livelli LOD attesi. Le analisi sono state ripetute almeno 60 volte per ogni livello di plasmide o di linea cellulare, sia in PreservCyt[®] Solution che in SurePath[™] Preservative Fluid, per ognuno dei 3 lotti di reagenti. Tutte le analisi eseguite per campioni in SurePath[™] sono state eseguite utilizzando il trattamento con **cobas**[®] Sample Prep Buffer. Il livello LOD è il livello di DNA di HPV presente nel campione che genera risultati di positività al test almeno il 95% delle volte. Nelle Tabelle 8 e 9 sono riportati i risultati relativi al lotto di reagenti che ha generato il livello LOD più conservativo (massimo) nell'analisi per PreservCyt[®] Solution e SurePath[™] Preservative Fluid, rispettivamente.

Tabella 8
Livelli LOD per i tipi di HPV 31, 16, 18 e per le linee cellulari SiHa (HPV16) ed HeLa (HPV18) in PreservCyt[®] Solution

Tipo di HPV	Titolo (copie o cellule/ml)	Numero di campioni positivi/analizzati	% di positivi	Intervallo di confidenza al 95%	
				Inferiore	Superiore
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%

Tabella 9

Livelli LOD per i tipi di HPV 31, 16, 18 e per le linee cellulari SiHa (HPV16) ed HeLa (HPV18) in SurePath™ Preservative Fluid

Tipo di HPV	Titolo (copie o cellule/ml)	Numero di campioni positivi/analizzati	% di positivi	Intervallo di confidenza al 95%	
				Inferiore	Superiore
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 di sensibilità: Roche Cell Collection Medium

I pannelli di diluizione del plasmide HPV31 e delle linee cellulari HPV16 e HPV18 sono stati analizzati fianco a fianco su un fondo di campioni di pazienti HPV-negativi raccolti in pool con Roche Cell Collection Medium e PreservCyt® Solution. Il limite di sensibilità per il test **cobas**® 4800 HPV è risultato equivalente.

Verifica di inclusività

Per verificare la capacità del test **cobas**® 4800 HPV di rilevare in maniera accurata tutti i genotipi di HPV ad alto rischio, è stato determinato il limite di sensibilità (Limit of Detection, LOD) per i genotipi 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68 (Tabelle 10 e 11). La sensibilità del test **cobas**® 4800 HPV per quanto riguarda i genotipi di HPV 16, 18 e 31 è stata determinata dallo studio precedentemente descritto in questo foglio illustrativo. Stock plasmidici quantificati di ciascun genotipo di HPV sono stati diluiti in PreservCyt® Solution o in SurePath™ Preservative Fluid contenenti cellule HCT-15 HPV-negative fino a concentrazioni inferiori, superiori o uguali ai livelli LOD attesi. È stato utilizzato un lotto di reagenti per analizzare almeno 48 volte ogni livello positivo in ogni terreno di trasporto. Per l'analisi dei campioni conservati in SurePath™ Preservative Fluid e sottoposti al trattamento con **cobas**® Sample Prep Buffer (Tabella 11), il materiale di fondo è stato preparato con campioni cervicali raccolti in SurePath™ Preservative Fluid e analizzati in 24 repliche ciascuno con due lotti di reagenti. Per ogni tipo di HPV, il limite LOD riferito è stato definito come la concentrazione più bassa con un tasso di positività ≥ 95%, dove tutte le concentrazioni più alte avevano almeno un tasso di positività del 95%.

Tabella 10

Riepilogo del limite LOD per i genotipi ad alto rischio con riferimento allo studio di inclusività dei genotipi per il test cobas® 4800 HPV (PreservCyt® Solution)

Tipo di DNA HPV	LOD (copie/ml)	Numero di campioni positivi/analizzati	Tasso di successo	Intervallo di confidenza al 95%	
				Inferiore	Superiore
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%

Tabella 11
Riepilogo del limite LOD per i genotipi ad alto rischio con riferimento
allo studio di inclusività dei genotipi per il test cobas® 4800 HPV
(SurePath™ Preservative Fluid)

Tipo di DNA HPV	LOD (copie/ml)	Numero di campioni positivi/analizzati	Tasso di successo	Intervallo di confidenza al 95%	
				Inferiore	Superiore
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%

Precisione: PreservCyt® Solution e SurePath™ Preservative Fluid

Utilizzando i membri del pannello preparato per lo studio sul limite di sensibilità precedentemente descritto, è stato possibile esaminare la precisione del test nell'ambito di uno stesso laboratorio. Per l'analisi della precisione sono stati utilizzati i livelli uguali o al di sopra del limite di sensibilità (LOD). I pannelli sono stati preparati arricchendo con plasmidi di HPV31, HPV16 e HPV18 uno sfondo costituito da un pool di campioni HPV-negativi conservati in PreservCyt® Solution e SurePath™ Preservative Fluid. Tutte le analisi eseguite per campioni in SurePath™ sono state eseguite utilizzando il trattamento con cobas® Sample Prep Buffer.

Nelle Tabelle 12 e 13 sono riportati rispettivamente i tassi di positività uguali e al di sopra del livello LOD per i membri del pannello (in PreservCyt® Solution e SurePath™ Preservative Fluid). I tassi di positività sono stati superiori al 95% per tutti i livelli del pannello di plasmidi. Oltre ad una valutazione della varianza nel valore del Ct per il test, sono stati considerati i fattori random, le differenze tra i lotti di reagenti, tra i sistemi, tra le sedute e nel corso della stessa seduta (vedere la Tabella 14 per PreservCyt® Solution e la Tabella 15 per SurePath™ Preservative Fluid). La Tabella 16 indica la deviazione standard (DS) del valore del Ct e il coefficiente di variazione (CV) percentuale delle componenti della variazione in PreservCyt® Solution. La Tabella 17 indica la deviazione standard (DS) del valore del Ct e il coefficiente di variazione (CV) percentuale delle componenti della variazione in SurePath™ Preservative Fluid.

Tabella 12
Riepilogo dei tassi di positività per lo studio di precisione del test cobas® 4800 HPV
con valori maggiori o uguali al limite LOD (PreservCyt® Solution)

Target	Livello del pannello	Concentrazione (copie o cellule/ml)	N. di test	N. di positivi	Tasso di positività	IC 95% per tasso di positività	
						Inferiore	Superiore
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%

Tabella 13
Riepilogo dei tassi di positività per lo studio di precisione del test cobas® 4800 HPV
con valori maggiori o uguali al limite LOD (SurePath™ Preservative Fluid)

Target	Livello del pannello	Concentrazione (copie o cellule/ml)	N. di test	N. di positivi	Tasso di positività	IC 95% per tasso di positività	
						Inferiore	Superiore
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%

Tabella 14
Analisi delle componenti della varianza (valore del Ct per i livelli del pannello in PreservCyt® Solution)
nello studio di precisione del test cobas® 4800 HPV

Target	Livello del pannello	N	Gomito media	Componenti varianza/Incidenza %				
				Lotto reagenti	Sistema	Seduta	Random	Totale
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%

Tabella 15
Analisi delle componenti della varianza
(valore del Ct per i livelli del pannello in SurePath™ Preservative Fluid)
nello studio di precisione del test cobas® 4800 HPV

Target	Livello del pannello	N	Gomito media	Componenti varianza/Incidenza %				
				Lotto reagenti	Sistema	Seduta	Random	Totale
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%

Tabella 16
Analisi della DS del valore del Ct e del coefficiente di variazione %
(livelli del pannello in PreservCyt® Solution)
nello studio di precisione del test cobas® 4800 HPV

Target	Livello del pannello	N	Gomito media	Componenti DS/%CV				
				Lotto reagenti	Sistema	Seduta	Random	Totale
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%

Tabella 17
Analisi della DS del valore del Ct e del coefficiente di variazione %
(livelli del pannello in SurePath™ Preservative Fluid)
nello studio di precisione del test cobas® 4800 HPV

Target	Livello del pannello	N	Gomito media	Componenti DS/%CV				
				Lotto reagenti	Sistema	Seduta	Random	Totale
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%

Precisione: Roche Cell Collection Medium

I pannelli sono stati preparati aggiungendo il DNA della linea cellulare HPV16 e il DNA della linea cellulare HPV18 a un fondo di campioni di pazienti HPV-negativi raccolti in pool con Roche Cell Collection Medium, a concentrazioni maggiori o uguali al valore LOD. I test eseguiti sui pannelli preparati in Roche Cell Collection Medium hanno ottenuto un livello di precisione equivalente a quello dei pannelli preparati in PreservCyt® Solution.

Specificità analitica

Con il test **cobas**® 4800 HPV sono stati analizzati batteri, funghi e virus tra i più comunemente presenti nel tratto urogenitale femminile, nonché svariati tipi di Papillomavirus umano classificati come a basso rischio o a rischio non determinato. Gli organismi elencati nella Tabella 18 sono stati aggiunti a concentrazioni elevate ($\geq 1 \times 10^3$ unità/reazione) in un fondo di campioni HPV-negativi in PreservCyt® Solution e in campioni HPV-negativi in PreservCyt® Solution già arricchiti con DNA plasmidico appartenente ad HPV 31, HPV16 e HPV18 con concentrazioni di 3 volte il limite di sensibilità (LOD). Gli organismi contrassegnati da un asterisco sono stati inoltre analizzati in un fondo di campioni in SurePath™ Preservative Fluid nelle medesime condizioni. Gli organismi contrassegnati dal doppio asterisco sono stati analizzati soltanto in un fondo di campioni in SurePath™. Tutte le analisi eseguite per campioni in SurePath™ sono state eseguite utilizzando il trattamento con **cobas**® Sample Prep Buffer. I risultati dimostrano che nessuno degli organismi esaminati è in grado di interferire con la rilevazione del DNA plasmidico di HPV31, HPV16 e HPV18 o di produrre risultati falsi positivi nei campioni HPV-negativi.

Tabella 18
Test della specificità analitica di alcuni microorganismi

<i>Achromobacter xerosis</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i> *
<i>Acinetobacter calcaceticus</i>	Virus dell'epatite B (HBV)	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	Virus dell'herpes simplex 1*	<i>Streptococcus faecalis</i> **
<i>Acinetobacter sp. genospecies 3</i>	Virus dell'herpes simplex 2*	<i>Streptococcus pyogenes</i> *
<i>Actinomyces israelii</i>	Virus dell'immunodeficienza umana (HIV-1)	<i>Streptococcus sanguis</i>
Adenovirus*	<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 crispus</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 sierogrupo A</i>	HPV 61
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	HPV 62
Citomegalovirus*	<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 di 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>	-

*Test eseguiti su fondo di campioni in PreservCyt® e in SurePath™

**Test eseguiti solo su fondo di campioni in SurePath™

Sostanze interferenti

Sono stati utilizzati campioni cervicali sia HPV-positivi che HPV-negativi, nonché campioni creati artificialmente, per valutare gli effetti delle sostanze di tipo endogeno ed esogeno potenzialmente interferenti che potrebbero essere presenti nei campioni cervicali. I materiali dei test realizzati per questi studi sono descritti nella Tabella 19. Le concentrazioni delle sostanze endogene ed esogene analizzate sono rappresentative delle condizioni che potrebbero verificarsi normalmente durante il prelievo dei campioni.

Le sostanze endogene potenzialmente interferenti che si trovano nei campioni cervicali e che sono state analizzate sono: sangue intero, cellule mononucleate del sangue periferico (PBMC) e muco cervicale. Tutte le analisi eseguite per campioni in SurePath™ sono state eseguite utilizzando il trattamento con **cobas**® Sample Prep Buffer. Nella Tabella 20 sono descritti i livelli di ogni sostanza potenzialmente interferente analizzata e le osservazioni sui risultati. Il sangue intero non ha determinato interferenze se presente in quantità rilevabili visivamente (fino al 2%), sia con Roche Cell Collection Medium che con PreservCyt® Solution. Il sangue intero non ha determinato interferenze fino a quantità rilevabili visivamente (fino al 4%) in SurePath™ Preservative Fluid.

Tabella 19
Descrizione dei campioni per i test di interferenza

Tipo di campione	Descrizione
Campioni cervicali HPV-positivi	Sono stati aliquotati 10 campioni HPV-positivi in PreservCyt® Solution per i test con e senza sostanze endogene interferenti
Campioni cervicali HPV-negativi	Sono stati aliquotati 10 campioni HPV-negativi in PreservCyt® Solution per i test con e senza sostanze endogene interferenti
Campioni cervicali HPV-positivi creati artificialmente	I campioni HPV-positivi (canale 1) in PreservCyt® Solution sono stati diluiti con i campioni HPV-negativi fino ad un livello di circa 3 volte il limite di sensibilità (LOD). I plasmidi dei tipi di HPV 16 (canale 2) e 18 (canale 3) sono stati quindi aggiunti a ~ 3 x LOD. Il plasmide HPV31, il DNA della linea cellulare HPV16 e il DNA della linea cellulare HPV18 sono stati aggiunti ai campioni dei pazienti HPV-negativi raccolti con Roche Cell Collection Medium, a concentrazioni pari a circa 3 volte il valore LOD.
Pool 3x LOD in PreservCyt® Solution e SurePath™ Preservative Fluid	I plasmidi dei tipi di HPV 31, 16, 18 sono stati diluiti ognuno a 3 x LOD in pool di campioni negativi in PreservCyt® Solution e SurePath™ Preservative Fluid.

Tabella 20
Risultati dei test di interferenza con sostanze endogene

Sostanza interferente	Concentrazioni analizzate	Interferenza osservata	
		PreservCyt®	SurePath™
Sangue intero	1%, 1,5%, 2%, 3%, 4%, 6%, 8% v/v	Sopra al 2%	Sopra al 4%
PBMC	10 ⁴ , 10 ⁵ , 10 ⁶ cellule/ml	Nessuna	Nessuna
Muco cervicale	Muco ottenuto attraverso la procedura standard di pulizia della cervice	Nessuna	Nessuna

Come potenziali sostanze interferenti sono stati analizzati 18 prodotti da banco per l'igiene intima femminile e contraccettivi. Nella Tabella 21 sono descritti i tipi di sostanze potenzialmente interferenti e le conclusioni sulle prestazioni dei pool raccolti con Roche Cell Collection Medium, PreservCyt® Solution e SurePath™ Preservative Fluid, a concentrazioni pari a 3 volte il valore LOD.

Tabella 21
Risultati dei test di interferenza con sostanze esogene

Sostanza interferente	Interferenza osservata
Gel, schiume contraccettive	Nessuna
Lubrificanti vaginali	*Sì
Lavande vaginali	Nessuna
Creme antimicotiche contenenti clotrimazolo 1%, fenazopiridina idrocloruro, idrocortisone 1%, miconazolo nitrato 2%, tioconazolo unguento 6,5%, benzocaina 20%	Nessuna

* Il Replens® (gel per il trattamento topico della secchezza vaginale) ha prodotto risultati negativi nelle repliche dei pool in SurePath™ Preservative Fluid a una concentrazione di 3 x LOD. L'interferenza è stata rilevata anche con il materiale in SurePath™ sottoposto a trattamento con **cobas**® Sample Prep Buffer. I prodotti RepHresh® per l'igiene intima femminile hanno prodotto risultati negativi nelle repliche dei pool in Roche Cell Collection Medium e PreservCyt® Solution a una concentrazione di 3 x LOD.

Stabilità dei campioni in SurePath™ conservati per 6 settimane a 2-30°C e sottoposti al trattamento con **cobas**® Sample Prep Buffer

Tre pool di campioni HPV-negativi conservati in SurePath™ sono stati arricchiti con materiale campione positivo al tipo di HPV 51 e conservati in SurePath™ al fine di ottenere pool di campioni positivi con tre livelli di concentrazione: normale, alta e bassa. Nel Giorno 0 il pool positivo basso aveva una concentrazione all'incirca pari al limite LOD per il test, prima del trattamento con **cobas**® Sample Prep Buffer. I pool sono stati conservati a 32°C e analizzati ad intervalli di 6 settimane al massimo. I materiali dei pool sono stati sottoposti ad inversione del cross-linking indotto dalla matrice e quindi analizzati con il test **cobas**® 4800 HPV alle scadenze temporali previste. Tutti e tre i pool hanno mantenuto valori Ct medi al di sotto del limite di cut-off clinico definito per il tipo di HPV 51 (40,0 per il canale 1) per tutto il periodo di conservazione protrattosi per 6 settimane (vedere la Tabella 22).

Tabella 22

Stabilità dei campioni in SurePath™ per 6 settimane se si utilizza il trattamento con **cobas® Sample Prep Buffer**

Pool in SurePath™	Valori Ct medi*				
	Giorno 0	Settimana 1	Settimana 3	Settimana 4	Settimana 6
Positivi alti	28,7	30,1	30,3	30,6	31,1
Positivi	32,9	33,5	34,1	33,9	34,6
Positivi bassi (~LOD)	36,9	37,9	38,0	38,8	38,7

* Test eseguiti in 40 repliche per i campioni Positivi Bassi alle scadenze previste; test eseguiti in 30 repliche per i campioni Positivi alle scadenze previste; test eseguiti in 20 repliche per i campioni Positivi Alti alle scadenze previste

Correlazione tra i risultati dei campioni autoprelevati con FLOQSwab® 552C.8 e i risultati dei campioni prelevati da un medico

Sono stati confrontati i risultati ottenuti con i campioni vaginali autoprelevati e con i campioni cervicali prelevati da un medico, utilizzando campioni appaiati prelevati da 744 donne idonee allo screening.

Ogni donna ha eseguito un autoprelievo con un tampone FLOQSwab® 552C.80 (Copan, Italia) e ha sospeso il campione in Roche Cell Collection Medium o PreservCyt® Solution dopo averlo raccolto. Un secondo campione è stato prelevato da un medico nel corso della stessa visita, secondo il protocollo sanitario standard, ed è stato quindi sospeso nello stesso tipo di terreno del campione autoprelevato.

La percentuale di risultati non validi per i campioni autoprelevati e per i campioni prelevati da un medico è stata rispettivamente del 4,6% e dello 0,3%. In totale, per l'analisi della correlazione sono stati utilizzati 708 risultati appaiati validi. I campioni con risultati positivi per uno dei 14 genotipi di HPV ad alto rischio rilevati dal test (HPV-HR) sono stati considerati positivi; i campioni con risultati negativi per tutti i 14 genotipi di HPV ad alto rischio rilevati dal test sono stati considerati negativi.

I risultati calcolati, insieme alla concordanza percentuale positiva, negativa e totale e agli intervalli di confidenza al 95%, sono riportati nella Tabella 23.

Tabella 23

Correlazione tra i risultati ottenuti con i campioni vaginali autoprelevati utilizzando i tamponi FLOQSwab® 552C.80 e con i campioni cervicali prelevati da un medico

		Campione cervicale prelevato da un medico		Totale
		Risultato 14 HR		
		Positivo	Negativo	
Campione vaginale autoprelevato con tampone FLOQSwab® 552C.80	Positivo	161	48	209
	Negativo	22	477	499
Totale		183	525	708

	Risultato (%)	Intervallo di confidenza al 95%
Concordanza percentuale positiva	88,0%	82,5-91,9%
Concordanza percentuale negativa	90,8%	88,1-93,0%
Concordanza percentuale totale	90,1%	87,7-92,1%

Correlazione tra i risultati dei campioni autoprelevati con Evalyn® Brush e i risultati dei campioni prelevati da un medico

I risultati ottenuti con i campioni vaginali autoprelevati e con i campioni cervicali prelevati da un medico sono stati confrontati utilizzando coppie di campioni prelevati da 784 donne idonee allo screening.

Ogni donna ha eseguito un autoprelievo con un tampone Evalyn® Brush (Rovers, Paesi Bassi) che, una volta raccolto, è stato sospeso in Roche Cell Collection Medium o PreservCyt® Solution. Un secondo campione è stato prelevato da un medico nel corso della stessa visita, secondo il protocollo sanitario standard, ed è stato quindi sospeso nello stesso tipo di terreno del campione autoprelevato.

La percentuale di risultati non validi per i campioni autoprelevati e per i campioni prelevati da un medico è stata rispettivamente del 4,7% e dello 0,4%. In totale, per l'analisi della correlazione sono state considerate 742 coppie di risultati validi. I campioni con risultati positivi per uno dei 14 genotipi di HPV ad alto rischio rilevati dal test (HPV-HR) sono stati considerati positivi; i campioni con risultati negativi per tutti i 14 genotipi di HPV ad alto rischio rilevati dal test sono stati considerati negativi.

I risultati calcolati, insieme alla concordanza percentuale positiva, negativa e totale e agli intervalli di confidenza al 95%, sono riportati nella Tabella 24.

Tabella 24

Correlazione tra i risultati dei campioni autoprelevati con Evalyn® Brush e i risultati dei campioni cervicali prelevati da un medico

		Campione cervicale prelevato da un medico		Totale
		Risultato 14 HR		
		Positivo	Negativo	
Campione vaginale autoprelevato con Evalyn® Brush	Positivo	195	37	232
	Negativo	25	485	510
Totale		220	522	742

	Risultato (%)	Intervallo di confidenza al 95%
Concordanza percentuale positiva	88,6%	83,8-92,2%
Concordanza percentuale negativa	92,9%	90,4-94,8%
Concordanza percentuale totale	91,6%	89,4-93,4%

BIBLIOGRAFIA

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.

Informazioni sulla revisione del documento	
Doc Rev. 22.0 11/2022	<p>Aggiunta di informazioni sul dispositivo per il prelievo, nella sezione Materiali necessari ma non forniti.</p> <p>Aggiornamento della sezione Prelievo, trasporto e conservazione dei campioni, con l'inserimento di informazioni sui campioni autoprelevati.</p> <p>Aggiunta di istruzioni per la sospensione dei campioni autoprelevati con Evalyn Brush e aggiornamento dei tipi di campioni validati nella sezione Istruzioni per l'uso.</p> <p>Aggiornamento della sezione Limiti della procedura, con la dichiarazione dei tipi di campioni validati per il test.</p> <p>Aggiornamento della sezione Prestazioni cliniche con i campioni clinici, con l'aggiunta di dati sulle prestazioni dei campioni autoprelevati con Evalyn Brush.</p> <p>Aggiornamento della sezione Marchi e brevetti, collegamento incluso.</p> <p>Modifiche generali alla formattazione del documento.</p> <p>Per ulteriori domande e chiarimenti, è possibile rivolgersi al rappresentante Roche locale.</p>
Doc Rev. 23.0 11/2023	<p>La tabella 23 è stata corretta.</p> <p>Modifiche generali alla formattazione del documento.</p> <p>Aggiornamento dei marchi cobas®.</p> <p>Per ulteriori domande e chiarimenti, è possibile rivolgersi al rappresentante Roche locale.</p>

Per prendere visione del report sintetico sulla sicurezza e sulle prestazioni, utilizzare il seguente collegamento:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Assistenza tecnica

Per richiedere assistenza tecnica, contattare la nostra filiale locale:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Produttore e importatore



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

Prodotto in USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Marchi e brevetti

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

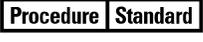
©2023 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



I seguenti simboli appaiono su tutte le confezioni di prodotti diagnostici PCR di Roche.

 Age/DOB Età o data di nascita	 Dispositivo non idoneo ai test POC	 QS IU/PCR UI QS per reazione PCR; utilizzare le unità internazionali (UI) QS per la reazione PCR nel calcolo dei risultati.
 Software ausiliario	 Dispositivo non idoneo all'autodiagnosi	 SN Numero di serie
 Assigned Range [copies/mL] Intervallo assegnato (copie/ml)	 Distributore <i>(Nota: il paese e/o la regione applicabili potrebbero essere indicati sotto il simbolo.)</i>	 Site Laboratorio
 Assigned Range [IU/mL] Intervallo assegnato (UI/ml)	 Non riutilizzare	 Procedure Standard Procedura standard
 EC REP Mandatario nella Comunità Europea	 Femmina	 STERILE EO Sterilizzazione con ossido di etilene
 BARCODE Foglio di dati del barcode	 Solo per valutazione delle prestazioni IVD	 Conservare al buio
 LOT Codice del batch	 GTIN Global Trade Item Number	 Limiti di temperatura
 Rischio biologico	 Importatore	 File di definizione del test
 REF Numero di catalogo	 IVD Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	 Alto
 Contrassegno di conformità CE: questo dispositivo è conforme ai requisiti pertinenti del marchio CE relativamente ai dispositivi medico-diagnostici <i>in vitro</i>	 LLR Limite inferiore dell'intervallo assegnato	 Procedure UltraSensitive Procedura ultrasensibile
 Collect Date Data di raccolta	 Maschio	 UDI Identificazione univoca del dispositivo
 Consultare le istruzioni per l'uso	 Fabbricante	 ULR Limite superiore dell'intervallo assegnato
 Contenuto sufficiente per <n> test	 CONTROL - Controllo negativo	 Urine Fill Line Riga di riempimento urina
 CONTENT Contenuto del kit	 Non sterile	 Rx Only Solo USA: la legge federale statunitense limita la vendita di questo dispositivo ai medici o su presentazione di prescrizione medica.
 CONTROL Controllo	 Nome del paziente	 Utilizzare entro la data
 Data di produzione	 Numero del paziente	
 Dispositivo idoneo ai test POC	 Staccare qui	
 Dispositivo idoneo all'autodiagnosi	 CONTROL + Controllo positivo	
	 QS copies / PCR Copie QS per reazione PCR; usare le copie QS per reazione PCR nel calcolo dei risultati.	