

Xpert[®] HPV

REF GXHPV-CE-10

Istruzioni per l'uso



Dichiarazioni relative a marchi di fabbrica, brevetti e copyright

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries.

All other trademarks are the property of their respective owners.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THESE INSTRUCTIONS FOR USE. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

© 2014–2025 Cepheid.

Cepheid[®], il logo Cepheid, GeneXpert[®] e Xpert[®] sono marchi di fabbrica di Cepheid, registrati negli USA e in altri Paesi.

Tutti gli altri marchi di fabbrica sono di proprietà dei rispettivi titolari.

L'ACQUISTO DI QUESTO PRODOTTO CONCEDE ALL'ACQUIRENTE IL DIRITTO NON TRASFERIBILE DI UTILIZZARLO IN ACCORDO ALLE PRESENTI ISTRUZIONI PER L'USO. NESSUN ALTRO DIRITTO VIENE CONCESSO ESPRESSAMENTE, IMPLICITAMENTE O PER PRECLUSIONE. INOLTRE, CON L'ACQUISTO DI QUESTO PRODOTTO NON VIENE CONCESSO NESSUN DIRITTO ALLA RIVENDITA.

© 2014–2025 Cepheid.

Vedere Sezione 26 Cronologia delle revisioni per una descrizione delle modifiche.

Xpert[®] HPV

Solo per uso diagnostico *in vitro*.

1 Nome registrato

Xpert[®] HPV

2 Nome comune o usuale

Test Xpert HPV

3 Destinazione d'uso

Il test Xpert HPV è un test qualitativo *in vitro* per il rilevamento della regione E6/E7 del genoma del DNA virale del papillomavirus umano (HPV) ad alto rischio in campioni di pazienti. Il test consiste nell'esecuzione di un'amplificazione multiplex del DNA bersaglio dei 14 tipi di HPV ad alto rischio, in una singola analisi, mediante reazione a catena della polimerasi (PCR) real time. Il test Xpert HPV identifica specificamente i tipi HPV 16 e HPV 18/45 in due canali di rilevamento distinti e riporta gli altri 11 tipi ad alto rischio (31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68) in un risultato combinato. I campioni di analisi sono limitati alle cellule cervicali prelevate in soluzione PreservCyt[®] (Hologic Corp.). I campioni cervicali raccolti in soluzione PreservCyt e pretrattati con Acido Acetico Glaciale (GAA) per lisare i globuli rossi in eccesso per la revisione citologica sono stati convalidati per l'uso con il test Xpert HPV.

Indicazioni per il test Xpert HPV:

- Il test Xpert HPV può essere utilizzato con un campione di Pap test per valutare la presenza o l'assenza dei tipi di HPV ad alto rischio. Queste informazioni, insieme alla valutazione del medico sulla storia clinica della paziente, altri fattori di rischio e linee guida professionali, possono essere utilizzate per guidare la gestione della paziente.
- Il test Xpert HPV può essere utilizzato con un campione di Pap test per valutare la presenza o l'assenza dei genotipi di HPV 16 e 18/45. Queste informazioni, insieme alla valutazione del medico sulla storia clinica della paziente, altri fattori di rischio e linee guida professionali, possono essere utilizzate per guidare la gestione della paziente.

4 Riepilogo e spiegazione

L'infezione persistente da HPV ad alto rischio è la causa principale del carcinoma della cervice uterina ed è un precursore della neoplasia cervicale intraepiteliale (CIN). La presenza dell'HPV è implicata in oltre il 99% dei tumori cervicali a livello mondiale.¹ L'HPV è un piccolo virus a DNA a doppia elica, privo di pericapside, con un genoma di circa 8.000 nucleotidi. Esistono più di 150 tipi diversi di HPV, e circa 40 tipi di HPV che sono in grado di infettare la mucosa ano-genitale nell'uomo.² Tuttavia, solo un sottoinsieme costituito da circa 14 di questi tipi è considerato ad alto rischio per lo sviluppo del tumore cervicale e delle relative lesioni precorritrici. I risultati dei recenti studi suggeriscono che i protocolli e i test di screening specifici per il DNA dei tipi di HPV ad alto rischio dovrebbero essere incentrati sui virus HPV di tipo 16, 18 e 45.³ Complessivamente, virus dell'HPV di tipo 16, 18 e 45 sono stati rilevati nel 75% di tutti i carcinomi squamosi ed è stato stabilito che sono associati a circa l'80% di tutti i carcinomi cervicali invasivi.^{4,5}

Nota Salvo diversamente specificato, nella presente pubblicazione "HPV" o "HR HPV" significa "HPV ad alto rischio".

5 Principio della procedura

Il test Xpert HPV è un test automatizzato per il rilevamento e il differenziamento qualitativo del DNA dell'HPV. Il test viene eseguito sui sistemi di strumentazione GeneXpert Cepheid.

I sistemi di strumentazione GeneXpert consentono di automatizzare e integrare il trattamento dei campioni, la lisi delle cellule, la purificazione, l'amplificazione degli acidi nucleici e il rilevamento delle sequenze bersaglio nei campioni clinici, utilizzando la PCR real time. I sistemi comprendono uno strumento, un computer e un software già installato per l'esecuzione dei test e la visualizzazione dei risultati. I sistemi richiedono l'utilizzo delle cartucce GeneXpert monouso contenenti i reagenti della PCR, all'interno delle quali viene collocato il campione e si svolge il trattamento basato sulla PCR. Grazie alle cartucce isolate ermeticamente nel contenuto, il rischio di contaminazione crociata tra i campioni è ridotto al minimo. Per una descrizione completa dei sistemi, vedere il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx* o il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Infinity, come appropriato*.

Il test Xpert HPV include i reagenti per il rilevamento dell'HPV ad alto rischio. Il test Xpert HPV è progettato per l'uso con campioni cervicali prelevati in PreservCyt tramite spazzolino o tramite spatola associata a spazzolino endocervicale. È possibile utilizzare anche i campioni cervicali pretrattati con determinati metodi che prevedono l'uso dell'acido acetico glaciale (GAA). I campioni cervicali prelevati in soluzione PreservCyt sono stati convalidati per l'uso con il test Xpert HPV. Per il prelievo dei campioni cervicali seguire le istruzioni del fabbricante.

La cartuccia include anche un controllo dell'adeguatezza dei campioni (SAC) e un controllo per la verifica della sonda (PCC). I reagenti del controllo SAC rilevano la presenza di un gene umano in singola copia e verificano che il campione di analisi contenga un numero adeguato di cellule umane tale da consentire l'esecuzione di una stima qualitativa dello stato dell'HPV. Il PCC verifica la reidratazione dei reagenti, il riempimento delle provette della PCR nelle cartucce, l'integrità delle sonde e la stabilità dei coloranti.

I canali contengono i primer e le sonde per il rilevamento dei genotipi specifici o dei risultati combinati, come descritto di seguito: "SAC; Principale" per il controllo dell'adeguatezza dei campioni, "HPV 16; Principale" per l'HPV 16, "HPV 18_45; Principale" per il risultato combinato dell'HPV 18/45, "P3; Principale" per il risultato combinato di uno dei tipi di HPV 31, 33, 35, 52 o 58, "P4; Principale" per il risultato combinato dell'HPV di tipo 51 o 59 e "P5; Principale" per il risultato combinato di uno dei tipi di HPV 39, 56, 66 o 68. Per un esempio di legenda del saggio, vedere Figura 5.

6 Reagenti e strumenti

6.1 Materiale fornito

Il kit Xpert HPV (GXHPV-CE-10) contiene reagenti sufficienti per processare 10 campioni di controllo qualità e/o campioni.

Il contenuto del kit è il seguente:

Cartucce Xpert HPV con provette di reazione integrate	10
<ul style="list-style-type: none"> • Microsfere 1 e 2 (liofilizzate) • Reagente tampone 	1 di ciascuna per cartuccia 2,0 ml per cartuccia
Pipette di trasferimento (1 ml)	10
CD	1
<ul style="list-style-type: none"> • File di definizione del saggio (ADF, Assay Definition File) • Istruzioni per l'importazione degli ADF nel software GeneXpert • Istruzioni per l'uso (foglietto illustrativo) 	

Nota Le schede dati di sicurezza (SDS) sono disponibili nei siti www.cepheid.com o www.cepheidinternational.com nella scheda **SUPPORTO (SUPPORT)**.

Nota Lo stabilizzatore proteico di origine bovina presente nelle microsfere di questo prodotto è stato realizzato e fabbricato esclusivamente con plasma bovino di origine statunitense. Gli animali non sono stati nutriti con proteine di ruminanti o altre proteine animali e hanno superato i test ante e post mortem. Durante la lavorazione, il materiale non è stato miscelato con altro materiale animale.

6.2 Conservazione e manipolazione

- Conservare le cartucce e i reagenti Xpert HPV a una temperatura compresa tra 2 °C e 28 °C.
- Non aprire le cartucce fino al momento di eseguire il test. Utilizzare le cartucce entro 30 minuti dall'apertura del coperchio.
- Non utilizzare i reagenti o le cartucce oltre la data di scadenza.
- Non utilizzare cartucce che presentano perdite.

6.3 Materiali necessari ma non forniti

- Campione cervicale prelevato in PreservCyt tramite spazzolino o tramite spatola associata a spazzolino endocervicale
- GeneXpert Dx System o GeneXpert Infinity System (il numero di catalogo varia a seconda della configurazione): strumento GeneXpert, computer, lettore di codici a barre, Manuale dell'operatore.
 - GeneXpert Dx System: Software versione 4.3 o successiva.
 - Sistemi GeneXpert Infinity-80 e Infinity-48: Software Xpertise versione 6.1 o successiva.
- Manuale dell'operatore di GeneXpert Instrument System appropriato
- Stampante (se è necessaria una stampante, contattare il Supporto Tecnico di Cepheid per organizzare l'acquisto di una stampante consigliata).

7 Avvertenze e precauzioni

7.1 Avvertenze generali

- Solo per uso diagnostico *in vitro*.
- Nei campioni clinici possono essere presenti microrganismi patogeni, inclusi i virus dell'epatite e il virus dell'immunodeficienza umana (HIV). Tutti i campioni biologici, comprese le cartucce usate, devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi. Poiché, nella maggior parte dei casi, è impossibile distinguere i potenziali veicoli di infezione, tutti i campioni biologici devono essere trattati attenendosi alle precauzioni standard. Le linee guida per il trattamento dei campioni sono disponibili presso l'ente statunitense per la prevenzione e il controllo delle malattie (U.S. Center for Disease Control and Prevention) e l'istituto per gli standard clinici e di laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute).^{6,7}
- Attenersi alle procedure di sicurezza in uso presso la struttura di riferimento per l'utilizzo e la manipolazione di sostanze chimiche e campioni biologici.
- I campioni biologici di analisi, i dispositivi di trasferimento e le cartucce usate devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi nel rispetto delle precauzioni standard. Attenersi alle procedure di smaltimento dei rifiuti ambientali in uso presso la struttura sanitaria per il corretto smaltimento delle cartucce usate e dei reagenti non utilizzati. Questi materiali potrebbero essere considerati rifiuti chimici pericolosi per il cui smaltimento occorre attenersi a specifiche procedure nazionali o regionali. Se i regolamenti nazionali o regionali non forniscono istruzioni chiare sul corretto smaltimento, i campioni biologici di analisi e le cartucce usate devono essere smaltiti in base alle linee guida dell'OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità) sulla manipolazione e lo smaltimento dei rifiuti medici.
- Per evitare la contaminazione dei campioni di analisi dei pazienti durante la manipolazione si consiglia di osservare le buone pratiche di laboratorio e cambiarsi i guanti tra un campione e l'altro.

7.2 Prelievo, trasporto e conservazione dei campioni di analisi

• Raccolta dei campioni di analisi

I campioni cervicali prelevati in soluzione PreservCyt sono stati convalidati per l'uso con il test Xpert HPV. Per il prelievo dei campioni cervicali seguire le istruzioni del fabbricante.

• Trasporto dei campioni di analisi

I campioni cervicali prelevati in soluzione PreservCyt possono essere trasportati a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C. Il trasporto dei campioni di HPV deve rispettare le normative nazionali, federali, statali e locali per il trasporto degli agenti eziologici.⁸

• Conservazione dei campioni di analisi

I campioni cervicali prelevati in soluzione PreservCyt possono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C fino a sei mesi dalla data del prelievo.

7.3 Saggio/Reagente

- Non sostituire i reagenti Xpert HPV con altri reagenti.
- Non aprire il coperchio della cartuccia Xpert HPV fino a quando non si è pronti ad aggiungere un campione durante il test.
- Non usare una cartuccia che sia caduta dopo essere stata estratta dalla confezione.
- Non agitare la cartuccia. Se la cartuccia cade o viene agitata dopo l'apertura, si potrebbero ottenere risultati non validi.
- Non applicare l'etichetta con l'ID campione sul coperchio della cartuccia o sull'etichetta del codice a barre.
- Non usare una cartuccia se la relativa provetta di reazione è danneggiata.
- Ciascuna cartuccia monouso Xpert HPV viene utilizzata per l'esecuzione di un solo test. Non riutilizzare le cartucce processate.
- Indossare camice da laboratorio e guanti puliti. Cambiare i guanti quando si passa da un campione all'altro durante il trattamento dei campioni.
- Nel caso in cui l'area di lavoro o le apparecchiature vengano contaminate da campioni o controlli, pulire a fondo l'area contaminata con una soluzione di candeggina domestica diluita 1:10 e poi con una soluzione di etanolo al 70% o di isopropanolo al 70%. Asciugare completamente le superfici di lavoro prima di continuare.

8 Pericoli chimici^{9,10}

Gli ingredienti non sono considerati pericolosi ai sensi delle direttive UE per la classificazione e l'etichettatura delle sostanze o delle miscele, né ai sensi del Sistema Globale Armonizzato per la classificazione e l'etichettatura delle sostanze o delle miscele.

9 Procedura

Prima di iniziare queste procedure, verificare che nello strumento GeneXpert sia in esecuzione il software GeneXpert Dx versione 4.3 o successiva o il software Xpertise versione 6.1 o successiva.

Importante Iniziare il test entro 30 minuti dall'apertura del coperchio della cartuccia.

9.1 Preparazione della cartuccia

Per aggiungere il campione alla cartuccia Xpert HPV:

1. Procurarsi i seguenti articoli:

- Cartuccia Xpert HPV.
- Pipetta di trasferimento (in dotazione). La tacca sulla pipetta indica il volume di riempimento di 1 ml.
- Campione del test adeguatamente prelevato ed etichettato.

2. Controllare che la cartuccia per il test non sia danneggiata. Se danneggiata, non utilizzarla.

3. Aprire il coperchio della cartuccia.

4. Miscelare il campione capovolgendo delicatamente il flaconcino da 8 a 10 volte, oppure miscelandolo brevemente con un miscelatore vortex a velocità media per 5 secondi.
5. Rimuovere l'involucro della pipetta di trasferimento.
6. Aprire il coperchio del flaconcino del campione, comprimere il bulbo della pipetta di trasferimento, inserire la pipetta nel flaconcino e rilasciare il bulbo per riempire la pipetta di trasferimento fino alla tacca da 1 ml. Vedere la Figura 1. Verificare che la pipetta si riempia senza che siano presenti bolle d'aria.

Importante Evitare di aggiungere muco in eccesso nella cartuccia.

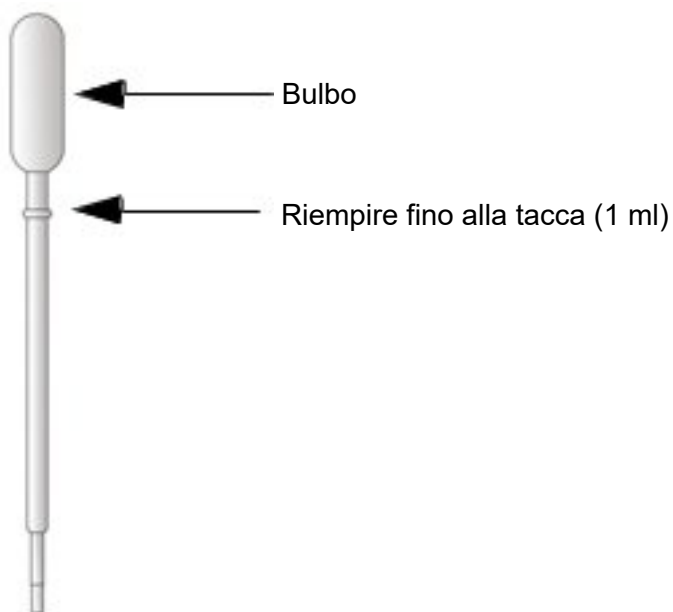


Figura 1. Pipetta di trasferimento e tacca di riempimento

7. Espellere il contenuto della pipetta nella camera del campione della cartuccia. Vedere la Figura 2.

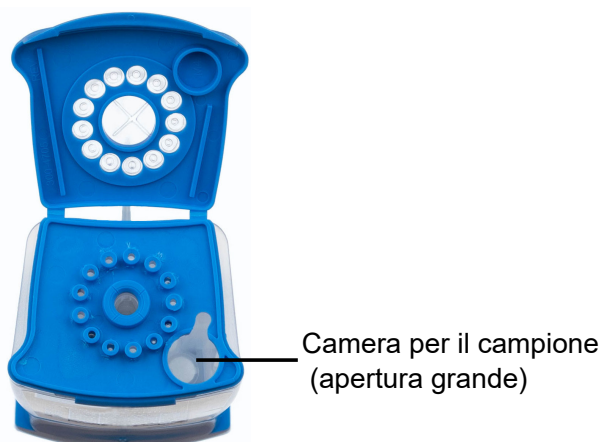


Figura 2. Cartuccia Xpert HPV (Vista dall'alto)

8. Chiudere il coperchio della cartuccia.

9.2 Avvio del test

Importante Prima di iniziare il test, verificare che i file di definizione del saggio (ADF) del test Xpert HPV siano stati importati nel software. Questa sezione elenca le fasi principali di esecuzione del test. Per istruzioni dettagliate, consultare *GeneXpert Dx System Operator Manual* o *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Nota I passaggi da seguire possono variare se l'amministratore del sistema modifica il flusso di lavoro predefinito del sistema.

In questa sezione vengono riportati i passaggi predefiniti per il funzionamento di GeneXpert System. Per istruzioni dettagliate, consultare *GeneXpert Dx System Operator Manual* o *GeneXpert Infinity System Operator Manual*, a seconda del modello utilizzato.

1. Accendere GeneXpert Instrument System:

- Se si utilizza GeneXpert Dx Instrument, accendere prima lo strumento e poi il computer. Il software GeneXpert si avvierà automaticamente o potrebbe essere necessario fare doppio clic sull'icona del collegamento del software GeneXpert Dx sul desktop di Windows®.
- oppure
- Se si utilizza lo strumento GeneXpert Infinity, accenderlo. Il software GeneXpert si avvierà automaticamente, oppure potrebbe essere necessario fare doppio clic sull'icona del collegamento del software Xpertise sul desktop di Windows.

2. Accedere al software di GeneXpert Instrument System utilizzando il proprio nome utente e la password.

3. Nella finestra GeneXpert System, fare clic su **Create Test (Crea test)** (GeneXpert Dx) oppure fare clic su **Orders (Ordini)** e **Order Test (Ordina test)** (Infinity). Viene visualizzata la finestra Create Test (Crea test). Vedere la Figura 3.

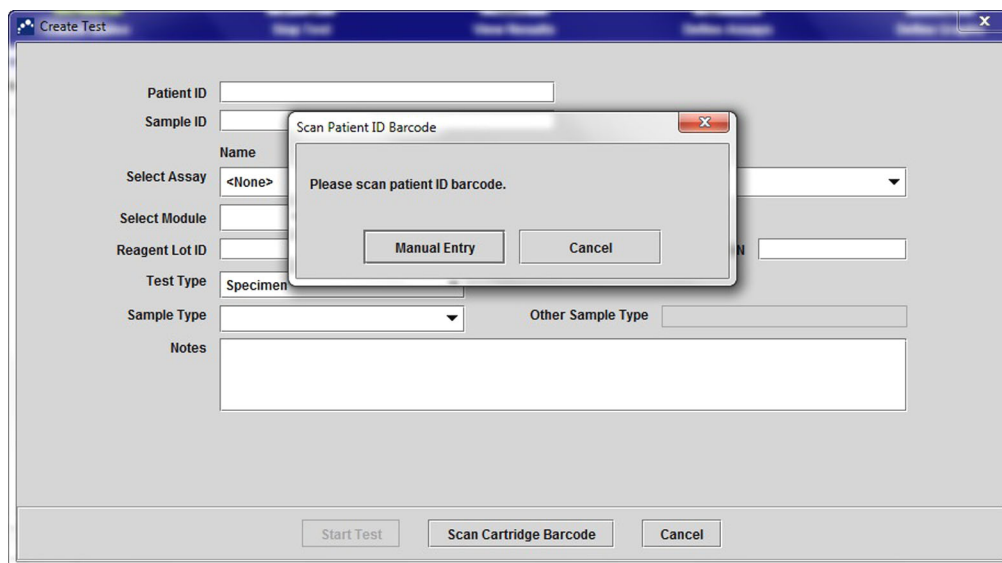


Figura 3. Finestra Create Test (Crea test) di GeneXpert Dx

- Eseguire la scansione o digitare l'ID paziente (opzionale). Se si digita l'ID paziente, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID paziente è associato ai risultati del test e viene mostrato nella finestra View Results (Visualizza risultati).
- Eseguire la scansione dell'ID campione o digitarlo. Se l'ID campione (Sample ID) viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID campione è associato ai risultati del test e viene visualizzato nella finestra View Results (Visualizza risultati) e in tutti i rapporti. Viene visualizzata la finestra di dialogo Scan Cartridge (Scansiona cartuccia).
- Eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia Xpert HPV. Viene visualizzata la finestra Create Test (Crea test). Utilizzando le informazioni contenute nel codice a barre, il software compila automaticamente le caselle relative ai seguenti campi: Seleziona saggio (Select Assay), ID lotto reagente (Reagent Lot ID), N/S cartuccia (Cartridge S/N) e Data di scadenza (Expiration Date).

Nota Se non è possibile eseguire la scansione del codice a barre sulla cartuccia Xpert HPV, ripetere il test con una nuova cartuccia attenendosi alla procedura descritta nella Sezione 14. Procedura di ripetizione del test.

	Name	Version
Select Assay	Xpert HPV 16_18-45	1
Select Module	Xpert HPV HR_16_18-45	1
	Xpert HPV HR	1
Reagent Lot ID*	Xpert HPV 16_18-45	1

Figura 4. Finestra Create Test (Crea test) di GeneXpert Dx con menu a discesa Select Assay (Seleziona saggio)

7. Dal menu a discesa **Select Assay (Seleziona saggio)** (vedere la Figura 4), selezionare il file di definizione del saggio (ADF) appropriato per il test HPV richiesto.

Il test Xpert HPV può essere configurato per impostare come file predefinito uno qualsiasi dei tre ADF a discrezione del laboratorio. Le richieste del medico per la genotipizzazione reflex dell'HPV 16 o dell'HPV 18/45 possono essere ordinate con il test specifico per il genotipo di HPV oppure, laddove indicato, eseguite come parte di un test completo per il genotipo e l'alto rischio.

- Test solo per HPV ad alto rischio: Selezionare **Xpert HPV HR** per ottenere un risultato complessivo positivo o negativo per la presenza di uno qualsiasi dei 14 tipi di HPV ad alto rischio rilevati. Un esempio è mostrato nella Figura 5.
- Test di genotipizzazione dell'HPV 16, 18/45: Selezionare **Xpert HPV 16_18-45** per ottenere un risultato positivo o negativo per:
 - il genotipo HPV 16 e per
 - il genotipo HPV 18 o HPV 45.

I risultati specifici relativi a tutti gli altri tipi di HPV non vengono né raccolti né visualizzati. Un esempio è mostrato nella Figura 6.

- Test combinato per i genotipi di HPV e per i genotipi di HPV ad alto rischio: Selezionando **Xpert HPV HR_16_18-45** si ottiene un risultato positivo o negativo per l'HPV 16, per l'HPV 18/45 e per la presenza di uno degli altri 11 tipi ad alto rischio indicati come "Altri HR HPV". Un esempio è mostrato nella Figura 7.

Nota Una volta avviato il test, saranno raccolti solo i risultati relativi al test selezionato in questo passaggio. I dati che non sono stati raccolti non sono recuperabili.

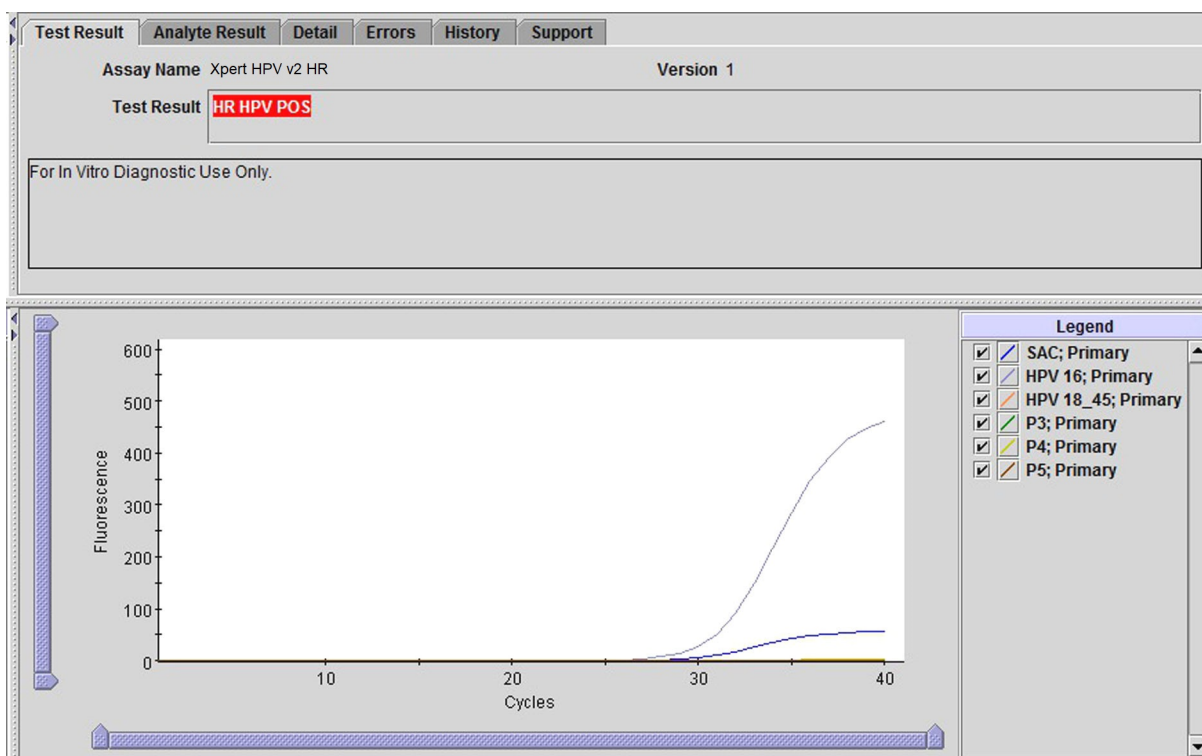


Figura 5. HPV HR Positivo

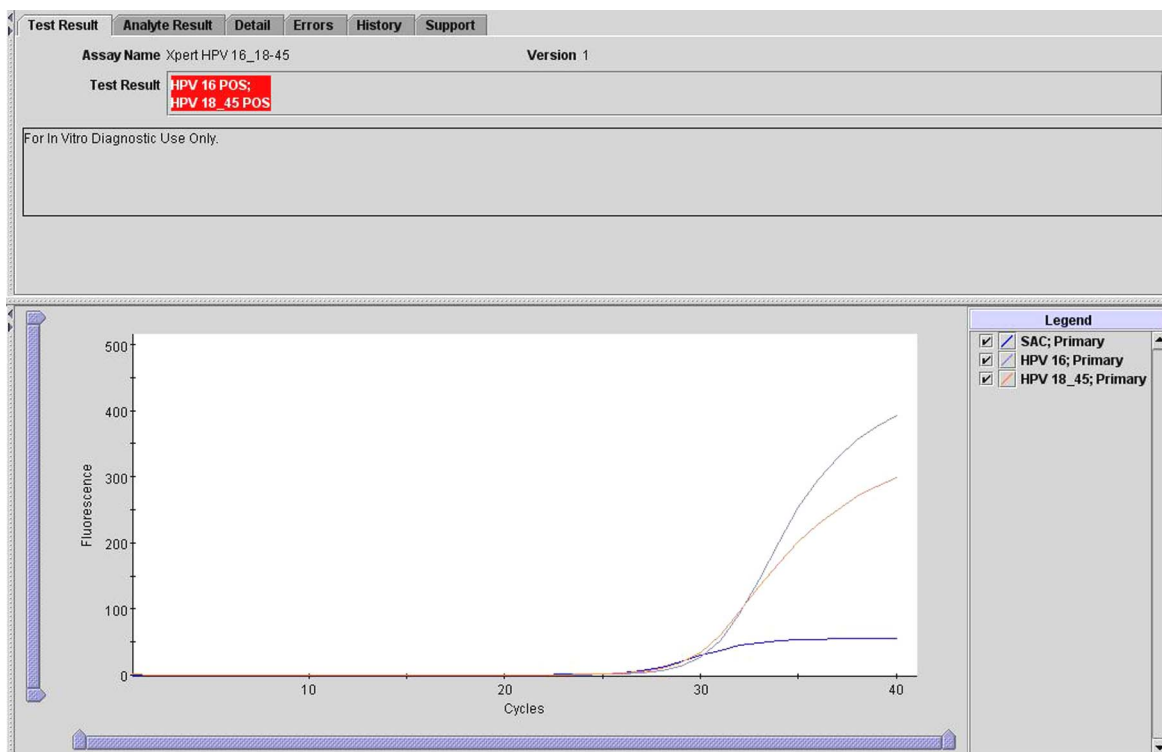


Figura 6. HPV 16_18-45 Positivo

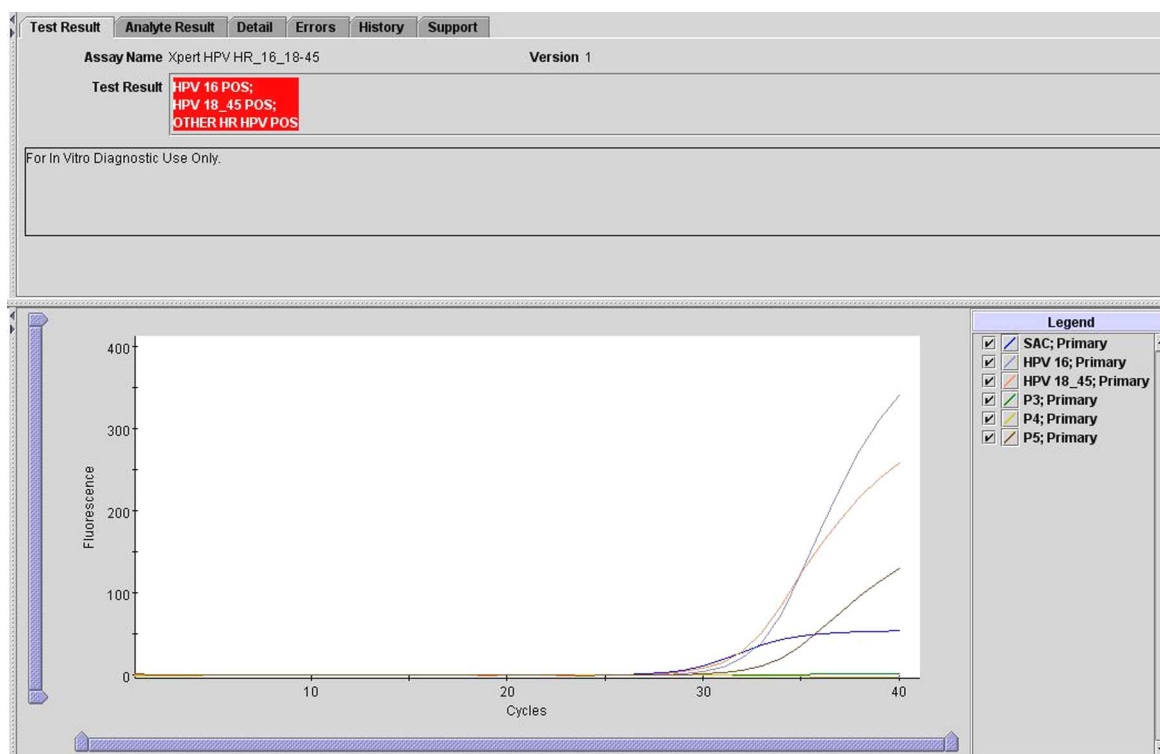


Figura 7. HPV HR_16_18-45 Positivo

8. Fare clic su **Start Test (Avvia test)** (GeneXpert Dx) o **Submit (Invia)** (Infinity). Inserire la password, se richiesto.

9. Per GeneXpert Infinity System, posizionare la cartuccia sul nastro trasportatore. La cartuccia viene caricata automaticamente, il test viene eseguito e la cartuccia usata viene quindi collocata nel contenitore dei rifiuti.

oppure

Per GeneXpert Dx Instrument:

- Aprire lo sportello del modulo dello strumento con la spia verde lampeggiante e caricare la cartuccia.
- Chiudere lo sportello. Il test viene avviato e la spia verde smette di lampeggiare. Al termine del test, la spia si spegne.
- Attendere che il sistema abbia sbloccato lo sportello del modulo prima di aprirlo, quindi rimuovere la cartuccia.
- Smaltire le cartucce usate negli appositi contenitori dei rifiuti per campioni di analisi, attenendosi alla prassi standard del proprio presidio.

Nota Il tempo per ottenere il risultato è di circa 60 minuti.

10 Visualizzazione e stampa dei risultati

Per istruzioni dettagliate su come visualizzare e stampare i risultati, consultare il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx* o il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Infinity*.

11 Controllo qualità

Ciascun test include un controllo per la verifica della sonda (PCC) e un controllo dell'adeguatezza dei campioni (SAC).

- **Controllo per la verifica della sonda (PCC):** prima che inizi la reazione di PCR, lo strumento GeneXpert misura il segnale di fluorescenza emesso dalle sonde, allo scopo di monitorare la reidratazione delle microsfere, il riempimento delle provette di reazione, l'integrità delle sonde e la stabilità dei coloranti. PCC si considera superato se soddisfa i criteri di accettazione convalidati.
- **Controllo dell'adeguatezza dei campioni (SAC):** i reagenti del controllo SAC rilevano la presenza di un gene umano a singola copia per cellula e verificano la presenza di DNA umano nel campione.
- **Controlli esterni:** Possono essere usati controlli esterni, in conformità con gli organismi di accreditamento locali, regionali e nazionali pertinenti.

12 Interpretazione dei risultati

I risultati ottenuti dalla misurazione dei segnali fluorescenti e dagli algoritmi di calcolo incorporati vengono interpretati dal sistema di strumentazione GeneXpert e visualizzati nella scheda Risultato del test (Test Result) della finestra Visualizza risultati (View Results). Il test Xpert HPV fornisce i risultati per i bersagli HPV, secondo i risultati e le interpretazioni mostrati nella Tabella 1.

Nota Una volta avviato il test, saranno raccolti solo i risultati del test selezionato.

Tabella 1. Risultati e interpretazioni di Xpert HPV

Risultato	Interpretazione
HR HPV POS Vedere la Figura 9.	Il DNA dell'HPV ad alto rischio è stato rilevato come positivo. <ul style="list-style-type: none"> • La sequenza bersaglio del DNA dell'HPV ad alto rischio ha un Ct nell'intervallo di validità e un endpoint di fluorescenza al di sopra del valore soglia impostato. • SAC: Non applicabile. Il risultato relativo al controllo SAC viene ignorato perché l'amplificazione della sequenza bersaglio dell'HPV può competere con questo controllo. • PCC: PASS (SUPERATO); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
HPV 16 POS Vedere Figura 11, Figura 13 e Figura 16.	Il DNA dell'HPV 16 è stato rilevato come positivo. <ul style="list-style-type: none"> • La sequenza bersaglio del DNA dell'HPV 16 ha un Ct nell'intervallo di validità e un endpoint di fluorescenza al di sopra del valore soglia impostato. • SAC: Non applicabile. Il risultato relativo al controllo SAC viene ignorato perché l'amplificazione della sequenza bersaglio dell'HPV può competere con questo controllo. • PCC: PASS (SUPERATO); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
HPV 18_45 POS Vedere la Figura 14 e la Figura 16.	Il DNA dell'HPV 18_45 è stato rilevato come positivo. <ul style="list-style-type: none"> • La sequenza bersaglio del DNA dell'HPV 18/45 ha un Ct nell'intervallo di validità e un endpoint di fluorescenza al di sopra del valore soglia impostato. • SAC: Non applicabile. Il risultato relativo al controllo SAC viene ignorato perché l'amplificazione della sequenza bersaglio dell'HPV può competere con questo controllo. • PCC: PASS (SUPERATO); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
ALTRI HR HPV POS Vedere la Figura 15 e la Figura 16.	Il DNA di altri tipi di HPV ad alto rischio viene rilevato come positivo. <ul style="list-style-type: none"> • La sequenza bersaglio del DNA degli altri tipi di HPV ad alto rischio ha un Ct nell'intervallo di validità e un endpoint di fluorescenza al di sopra del valore soglia impostato. • SAC: Non applicabile. Il risultato relativo al controllo SAC viene ignorato perché l'amplificazione della sequenza bersaglio degli altri HPV ad alto rischio può competere con questo controllo. • PCC: PASS (SUPERATO); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.

Risultato	Interpretazione
HR HPV NEG Vedere la Figura 8.	Il DNA dell'HPV ad alto rischio è al di sotto del livello di rilevamento. <ul style="list-style-type: none"> La sequenza bersaglio del DNA dell'HPV ad alto rischio ha un Ct che non rientra nell'intervallo di validità e/o un endpoint di fluorescenza sotto il valore soglia impostato. SAC: PASS (SUPERATO). L'amplificazione mediante PCR della sequenza bersaglio del controllo SAC fornisce un Ct nell'intervallo di validità e un endpoint di fluorescenza al di sopra del valore soglia impostato. PCC: PASS (SUPERATO); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
HPV 16 NEG Vedere Figura 10, Figura 12, Figura 14 e Figura 15.	Il DNA dell'HPV 16 è al di sotto del livello di rilevamento. <ul style="list-style-type: none"> La sequenza bersaglio del DNA dell'HPV 16 ha un Ct che non rientra nell'intervallo di validità e/o un endpoint di fluorescenza sotto il valore soglia impostato. SAC: PASS (SUPERATO). L'amplificazione mediante PCR della sequenza bersaglio del controllo SAC fornisce un Ct nell'intervallo di validità e un endpoint di fluorescenza al di sopra del valore soglia impostato. PCC: PASS (SUPERATO); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
HPV 18_45 NEG Vedere Figura 10, Figura 11, Figura 12, Figura 13 e Figura 15.	Il DNA dell'HPV 18-45 è al di sotto del livello di rilevamento. <ul style="list-style-type: none"> La sequenza bersaglio del DNA dell'HPV 18/45 ha un Ct che non rientra nell'intervallo di validità e/o un endpoint di fluorescenza sotto il valore soglia impostato. SAC: PASS (SUPERATO). L'amplificazione mediante PCR della sequenza bersaglio del controllo SAC fornisce un Ct nell'intervallo di validità e un endpoint di fluorescenza al di sopra del valore soglia impostato. PCC: PASS (SUPERATO); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
ALTRI HR HPV NEG Vedere Figura 12, Figura 13 e Figura 14.	Il DNA degli altri HPV ad alto rischio è al di sotto del livello di rilevamento. <ul style="list-style-type: none"> La sequenza bersaglio del DNA degli altri HPV ad alto rischio ha un Ct che non rientra nell'intervallo di validità e/o un endpoint di fluorescenza sotto il valore soglia impostato. SAC: PASS (SUPERATO). L'amplificazione mediante PCR della sequenza bersaglio del controllo SAC fornisce un Ct nell'intervallo di validità e un endpoint di fluorescenza al di sopra del valore soglia impostato. PCC: PASS (SUPERATO); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
INVALID (NON VALIDO) Vedere la Figura 17.	La presenza o l'assenza della sequenza bersaglio del DNA dell'HPV non può essere determinata. Ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella Sezione 14. Procedura di ripetizione del test. <ul style="list-style-type: none"> SAC: FAIL (NON SUPERATO). Il controllo SAC ha un Ct che non rientra nell'intervallo di validità e/o un endpoint di fluorescenza al di sotto del valore soglia impostato. PCC: PASS (SUPERATO); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
ERROR (ERRORE)	La presenza o l'assenza della sequenza bersaglio del DNA dell'HPV non può essere determinata. Ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella Sezione 14. Procedura di ripetizione del test. <ul style="list-style-type: none"> SAC: NO RESULT (NESSUN RISULTATO) PCC: FAIL (NON SUPERATO)*; uno o più risultati della verifica della sonda non sono validi. <p>* Se la verifica della sonda è riuscita, l'errore deriva dal superamento dell'intervallo accettabile da parte del limite massimo di pressione oppure dal guasto di un componente del sistema.</p>

Risultato	Interpretazione
NO RESULT (NESSUN RISULTATO)	<p>La presenza o l'assenza della sequenza bersaglio del DNA dell'HPV non può essere determinata. Ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella Sezione 14. Procedura di ripetizione del test. NESSUN RISULTATO (NO RESULT) indica che i dati raccolti sono insufficienti. Ad esempio, l'operatore ha interrotto un test che era in esecuzione oppure si è verificata un'interruzione di alimentazione.</p> <ul style="list-style-type: none">• HPV: NO RESULT (NESSUN RISULTATO)• SAC: NO RESULT (NESSUN RISULTATO)• PCC: NA (non applicabile)

Nota

Le schermate mostrate in questa sezione riflettono esempi che utilizzano i tre saggi. Figura 8 e la Figura 9 utilizzano Xpert HPV HR, la Figura 10 e la Figura 11 utilizzano Xpert HPV 16_18-45, mentre dalla Figura 12 alla Figura 14 viene utilizzato Xpert HPV HR_16_18-45 dal menu a discesa. (Vedere la Sezione 9.2. Avvio del test e il menu a discesa illustrato nella Figura 4).

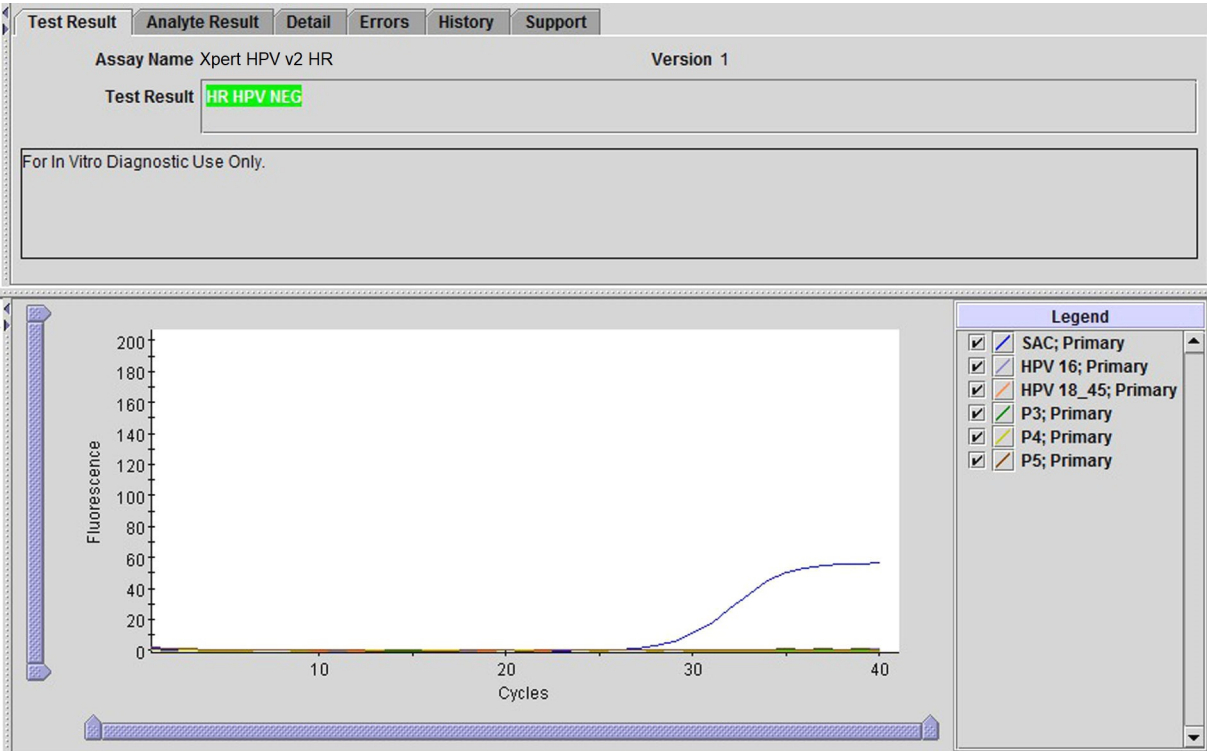


Figura 8. Negativo per HPV ad alto rischio (risultato ottenuto con Xpert HPV HR)

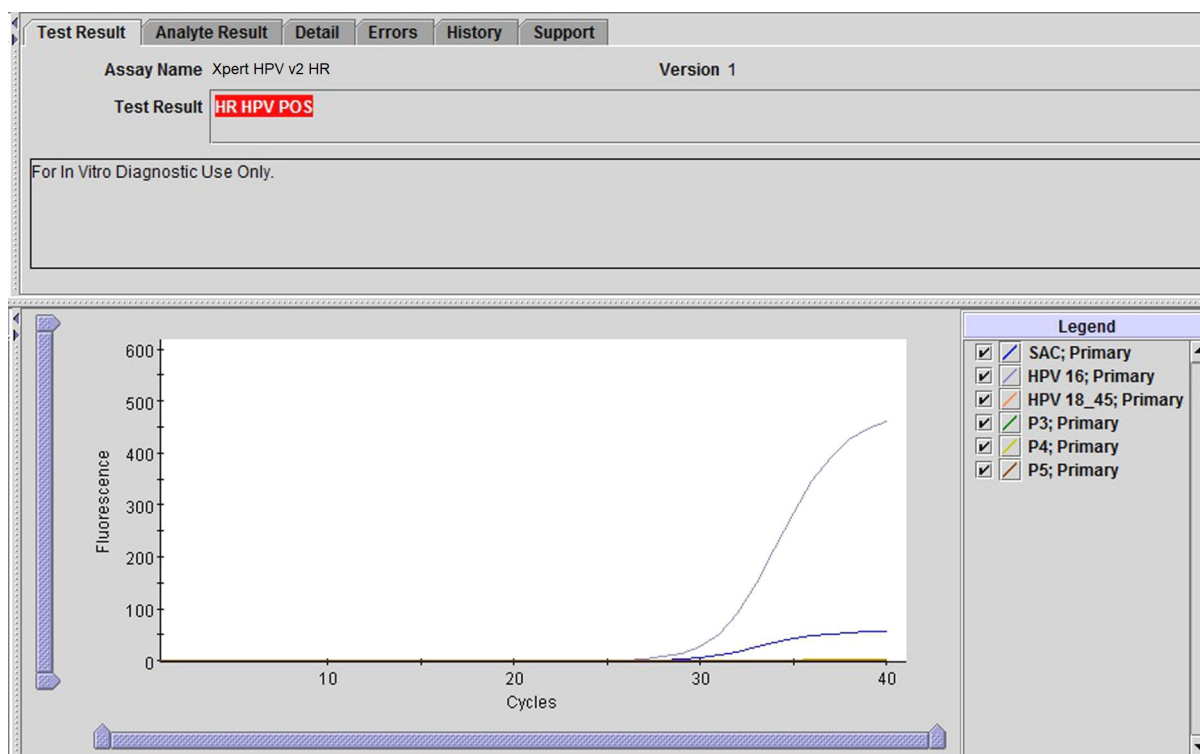


Figura 9. Positivo per HPV ad alto rischio (risultato ottenuto con Xpert HPV HR)

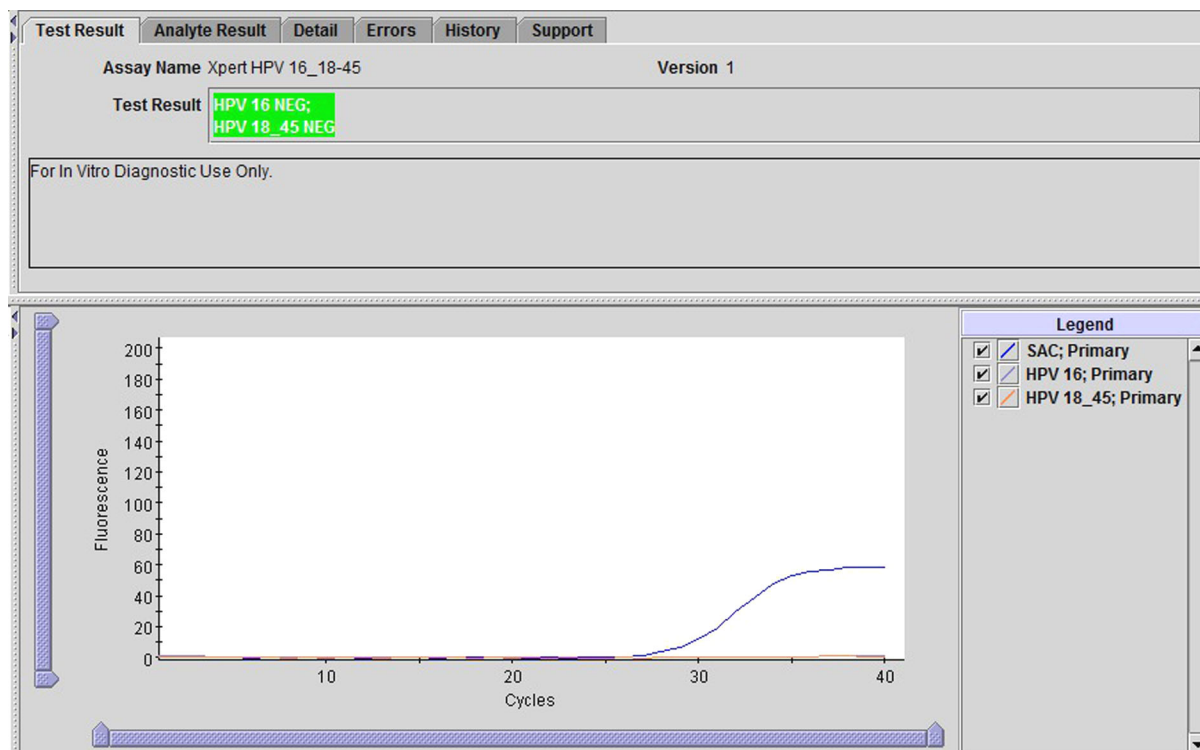


Figura 10. Negativo per HPV 16; negativo per HPV 18-45 (risultato ottenuto con Xpert HPV 16_18-45)

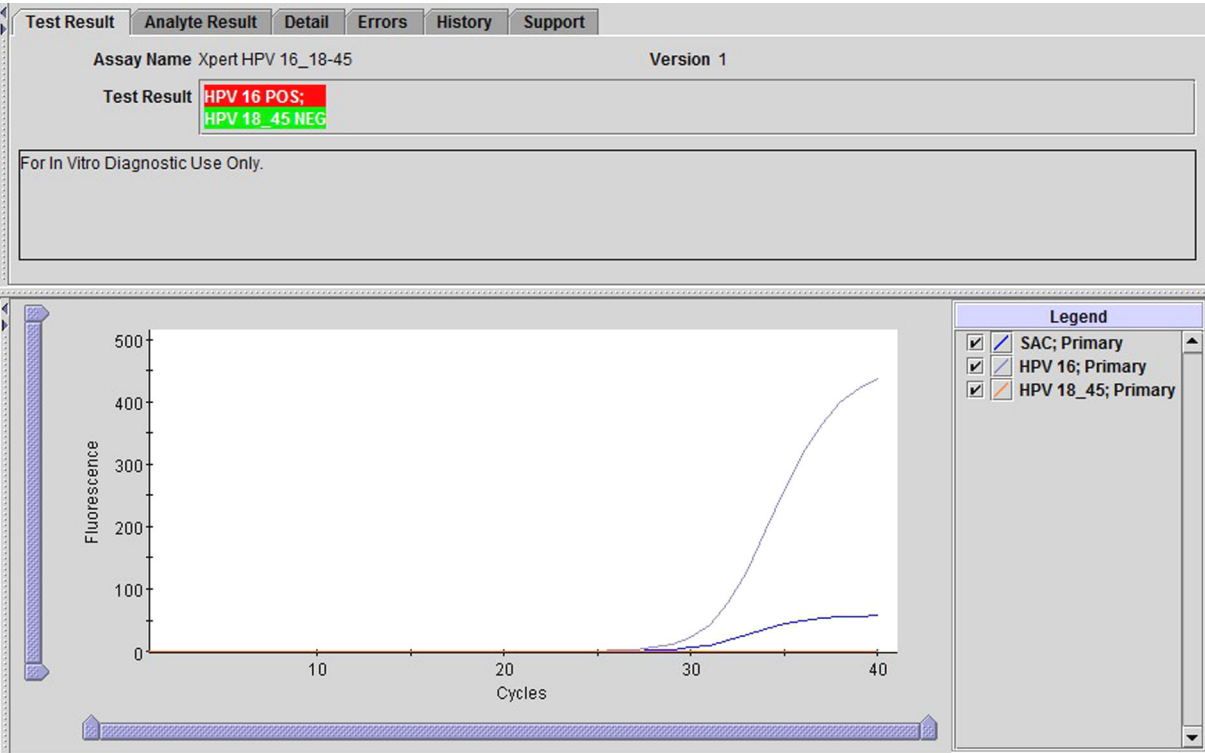


Figura 11. Positivo per HPV 16; negativo per HPV 18-45 (risultato ottenuto con Xpert HPV 16_18-45)

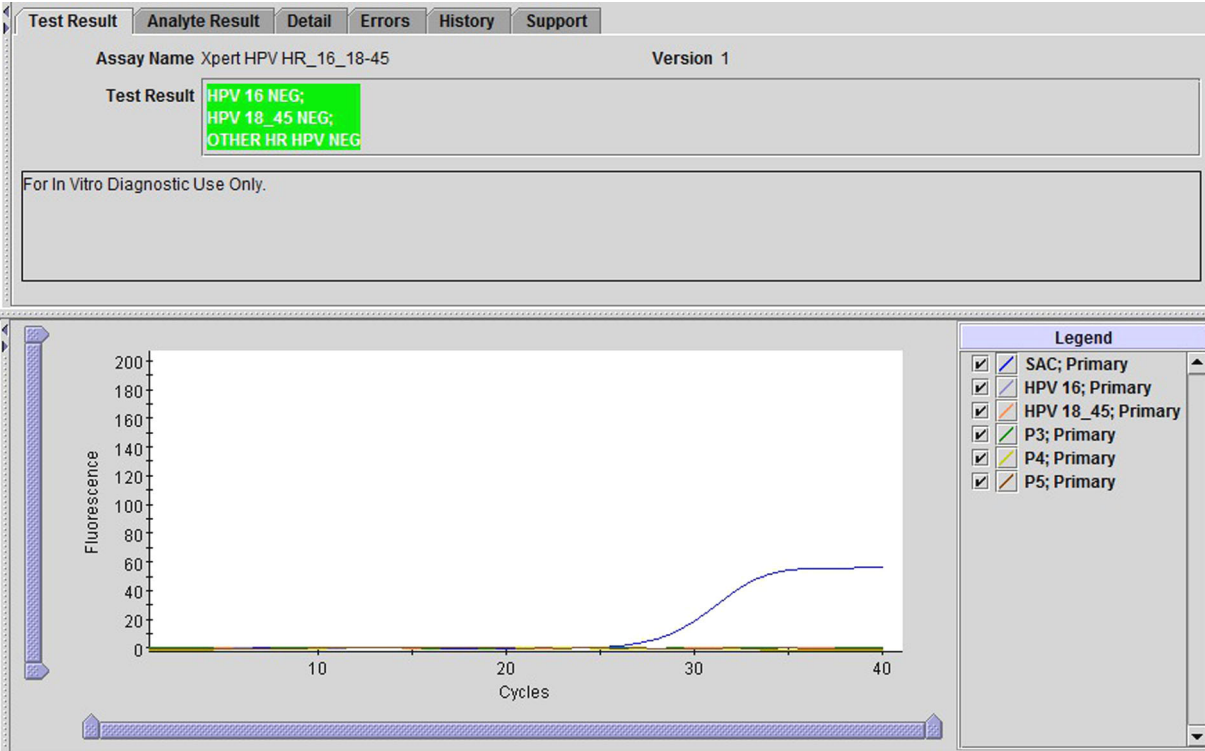


Figura 12. Negativo per HPV 16; negativo per HPV 18-45; negativo per gli altri HPV ad alto rischio (risultato ottenuto con Xpert HPV HR_16_18-45)

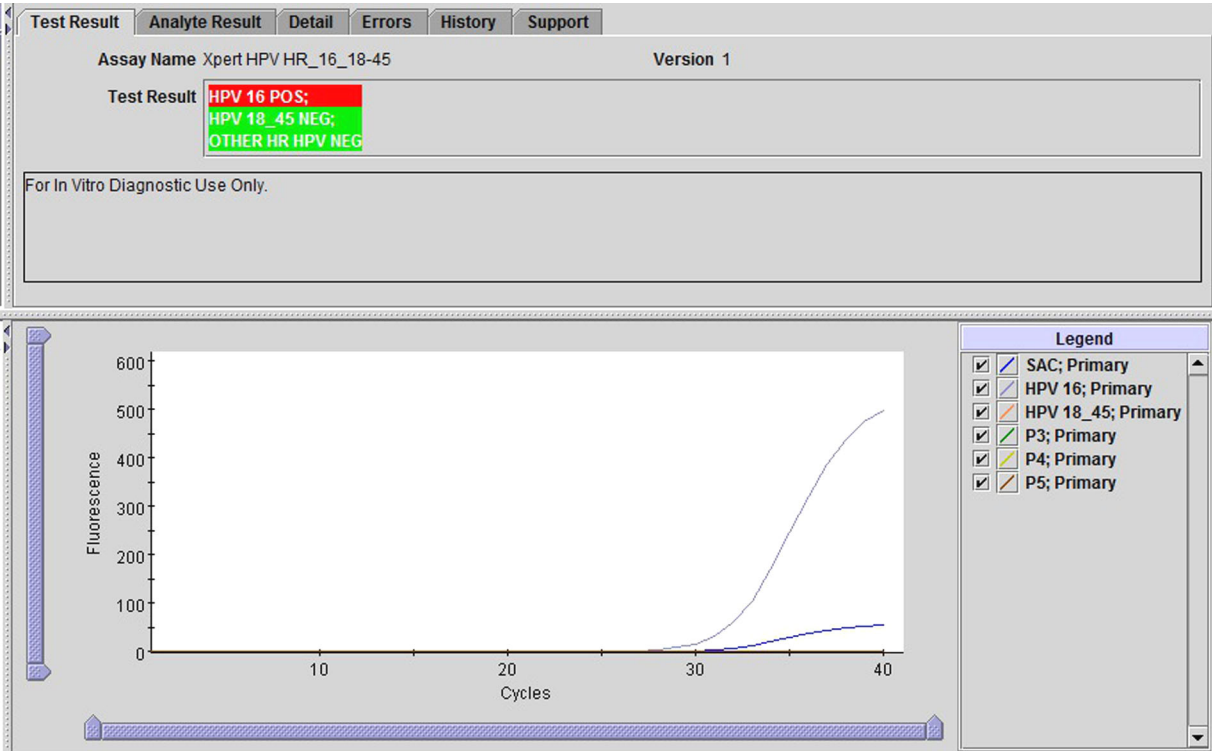


Figura 13. Positivo per HPV 16; negativo per HPV 18-45; negativo per gli altri HPV ad alto rischio (risultato ottenuto con Xpert HPV HR_16_18-45)

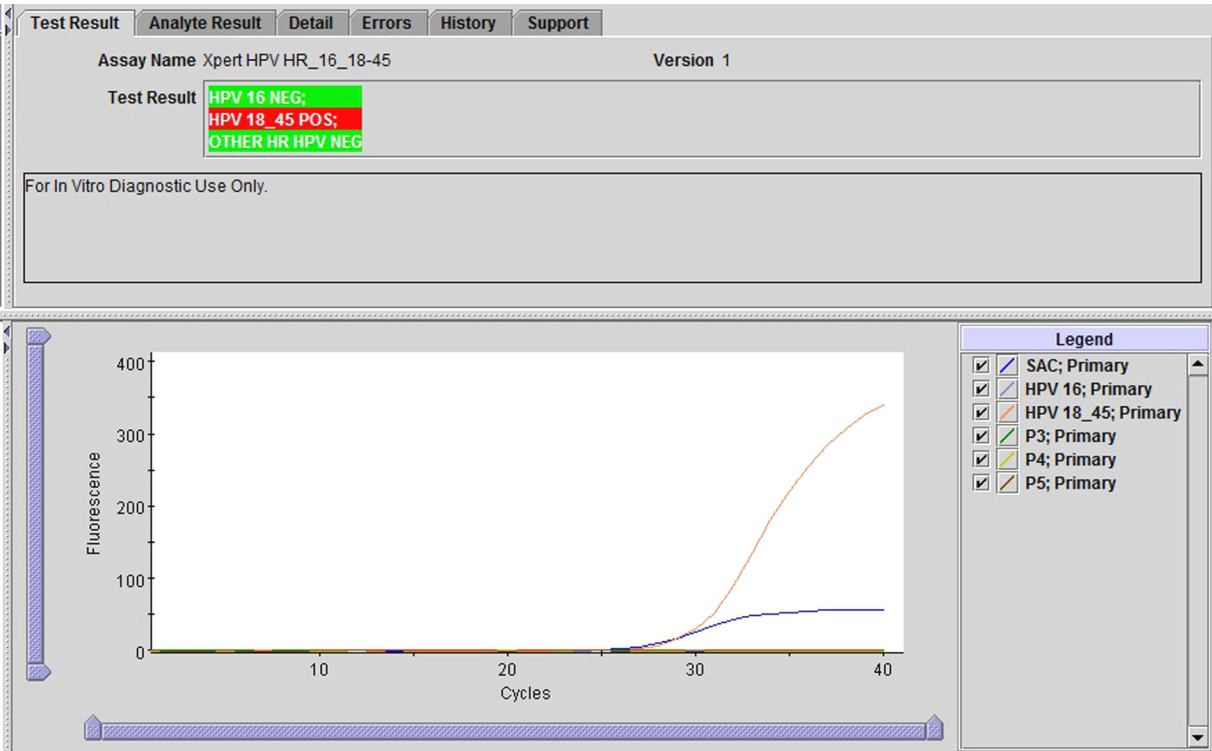


Figura 14. Negativo per HPV 16; positivo per HPV 18-45; negativo per gli altri HPV ad alto rischio (risultato ottenuto con Xpert HPV HR_16_18-45)

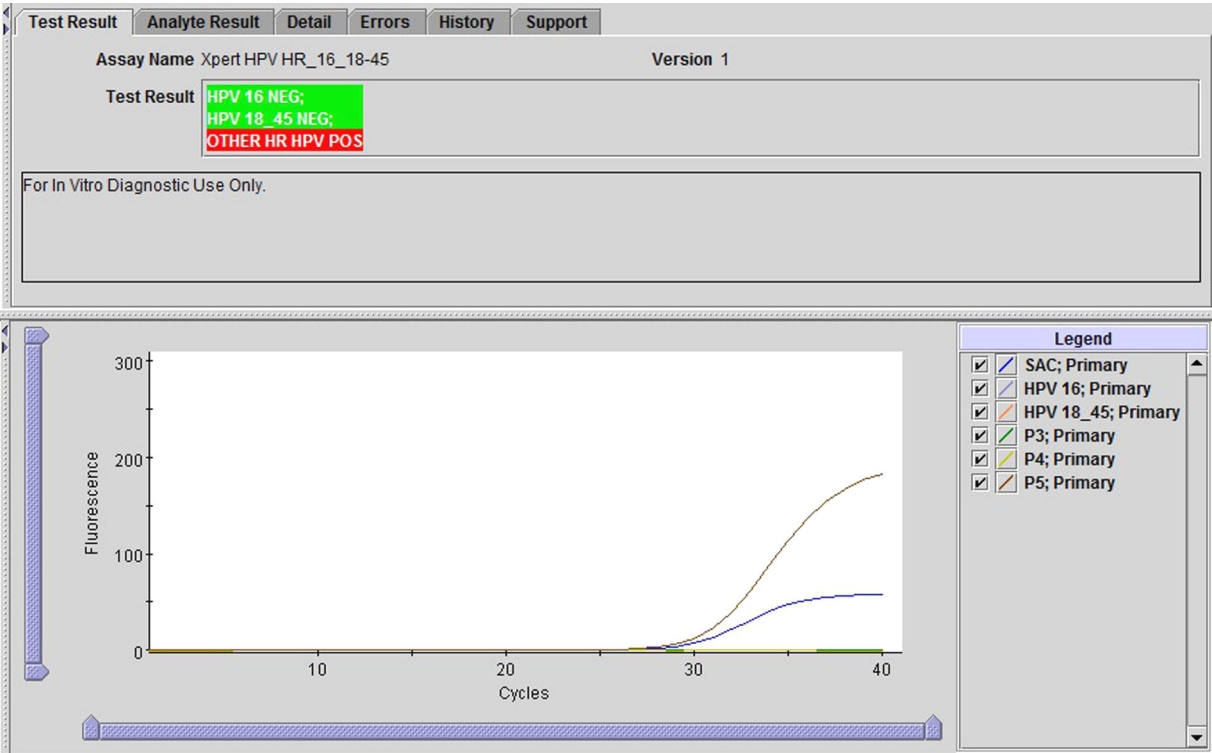


Figura 15. Negativo per HPV 16; negativo per HPV 18-45; positivo per gli altri HPV ad alto rischio (risultato ottenuto con Xpert HPV HR_16_18-45)

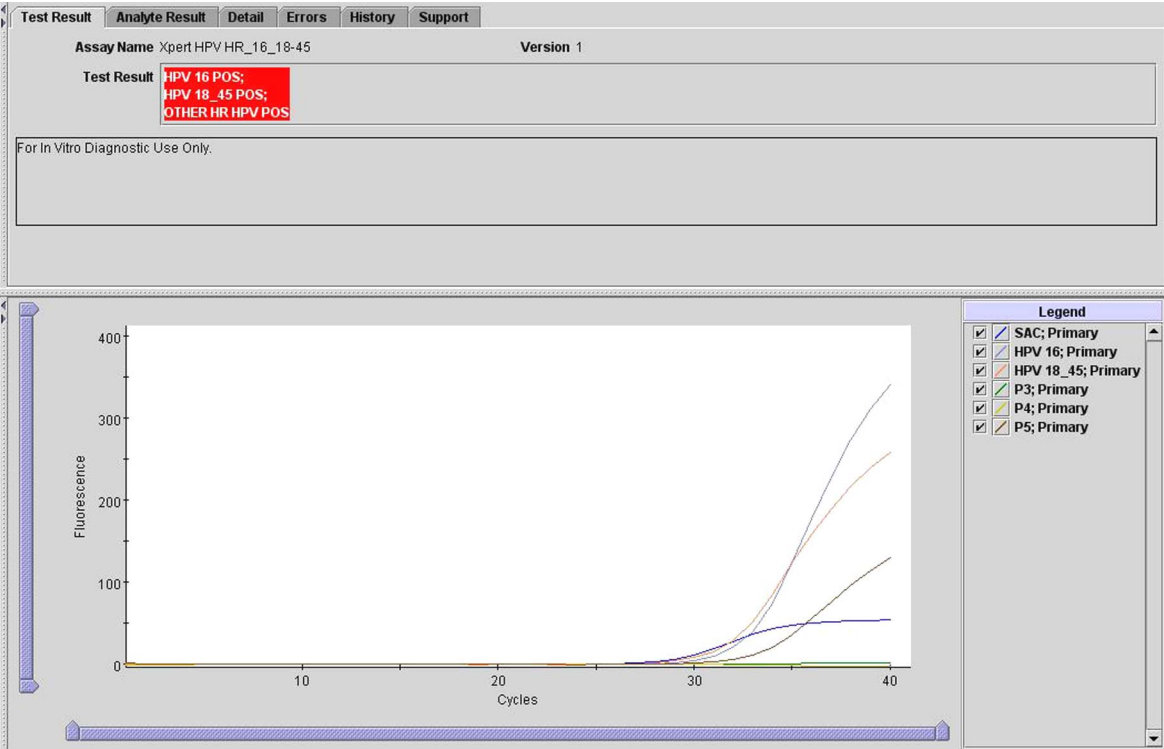


Figura 16. Positivo per HPV 16; positivo per HPV 18-45; positivo per gli altri HPV ad alto rischio (risultato ottenuto con Xpert HPV HR_16_18-45)

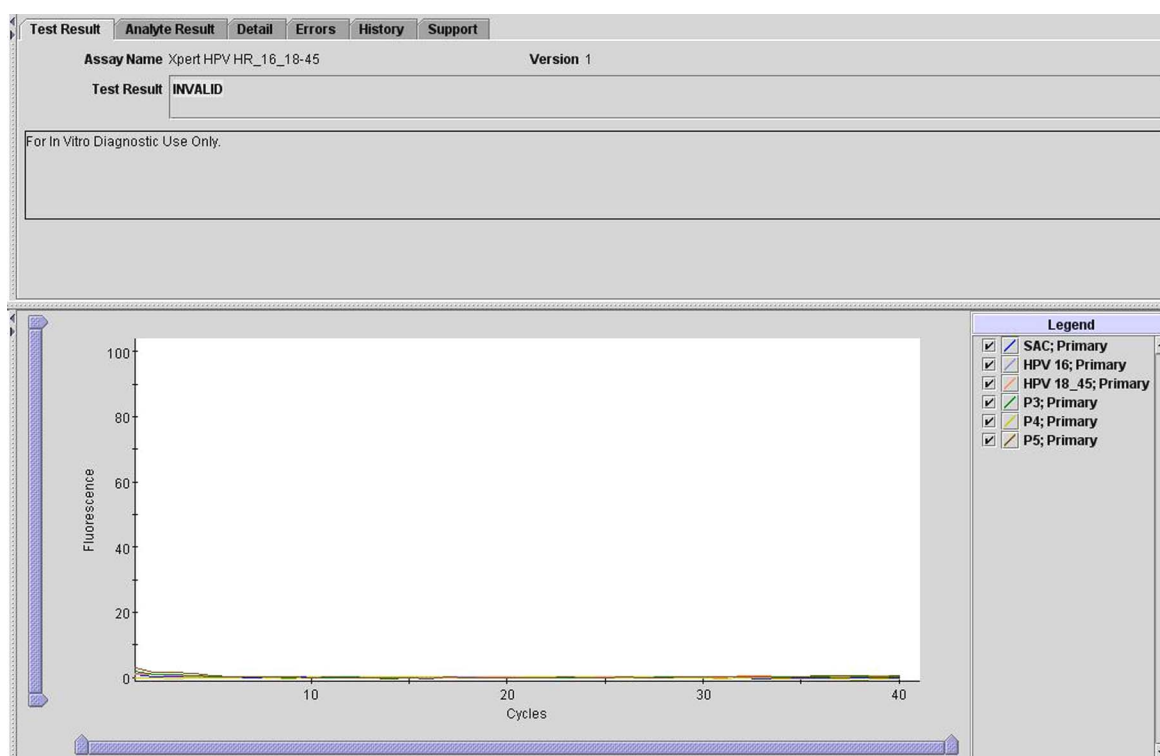


Figura 17. Non valido per HPV HR_16_18-45 (risultato ottenuto con Xpert HPV HR_16_18-45)

13 Motivi per ripetere il test

Se si ottiene uno dei risultati riportati di seguito, ripetere il test attenendosi alle istruzioni della Sezione 14. Procedura di ripetizione del test.

- Un risultato **NON VALIDO (INVALID)** indica che il controllo SAC ha avuto esito negativo, il campione non è stato trattato adeguatamente, la PCR è stata inibita o il campione era inadeguato.
- Un risultato **ERRORE (ERROR)** indica che il test è stato interrotto, probabilmente perché la provetta di reazione non è stata riempita correttamente, è stato rilevato un problema di integrità della sonda del reagente, sono stati superati i limiti di pressione, una verifica della sonda non è riuscita oppure è stato rilevato un errore di posizionamento della valvola.
- Un risultato **NESSUN RISULTATO (NO RESULT)** indica che i dati raccolti sono insufficienti. Ad esempio, l'operatore ha interrotto un test che era in esecuzione oppure si è verificata un'interruzione di alimentazione.

14 Procedura di ripetizione del test

- Ripetere il test con una nuova cartuccia (non riutilizzare la cartuccia). Vedere la Sezione 9. Procedura.
- Ottenere il campione residuo.
- Se il volume del campione residuo è insufficiente o se ripetendo il test si continuano a ottenere risultati del tipo **NON VALIDO (INVALID)**, **ERRORE (ERROR)** o **NESSUN RISULTATO (NO RESULT)**, prelevare un nuovo campione e ripetere il test con una nuova cartuccia.

15 Limitazioni

- Il rilevamento dell'HPV dipende dal DNA presente nel campione, pertanto l'affidabilità dei risultati dipende dall'adeguatezza del prelievo, della manipolazione e della conservazione del campione.
- Il test Xpert HPV è stato convalidato esclusivamente per l'uso con campioni cervicali prelevati in soluzione PreservCyt tramite spazzolino o tramite spatola associata a spazzolino endocervicale.
- Risultati del test errati possono dipendere dal prelievo inadeguato dei campioni di analisi, da un errore tecnico, dallo scambio di campioni o dal fatto che il numero di copie del DNA dell'HPV è al di sotto del limite di rilevamento del test.

- Il test Xpert HPV è stato convalidato esclusivamente mediante le procedure riportate in questo foglietto illustrativo. Le modifiche apportate a queste procedure possono alterare le prestazioni del test.
- L'interferenza del saggio può essere osservata in presenza di: sangue intero ($\geq 0,25\%$ v/v), cellule mononucleate del sangue periferico (PBMK) ($\geq 1 \times 10^6$ cellule/ml), *Candida albicans* ($\geq 1 \times 10^8$ cellule/ml), crema contro il prurito Vagisil ($\geq 0,25\%$ p/v) o gel idratante Vagi Gard ($\geq 0,5\%$ p/v).
- La presenza di creme vaginali dense ($> 0,25\%$ p/v) nel campione può provocare interruzioni del saggio causate dalla pressione.
- Gli effetti di altre potenziali variabili quali perdite vaginali, uso di assorbenti interni, di lavande vaginali e variabili legate al prelievo dei campioni non sono stati determinati.
- Il test Xpert HPV fornisce risultati qualitativi. Non è possibile desumere alcuna correlazione tra la grandezza del valore Ct e il numero di cellule presenti in un campione infetto.
- Le prestazioni del test Xpert HPV non sono state valutate in pazienti di età inferiore a 18 anni.
- Le prestazioni del test Xpert HPV non sono state valutate nelle donne con precedente isterectomia.
- Il test Xpert HPV non è stato convalidato per l'uso con tamponi vaginali prelevati dal medico o dalla paziente.
- Il test Xpert HPV non è stato valutato con pazienti in corso di trattamento con agenti antimicrobici per infezioni come la clamidia o la gonorrea.
- Come nel caso di molti test diagnostici, i risultati del test Xpert HPV devono essere interpretati assieme ad altri dati clinici e di laboratorio a disposizione del medico.
- Le prestazioni del test Xpert HPV non sono state valutate per i soggetti vaccinati contro l'HPV.
- Il test Xpert HPV non è stato valutato in caso di sospetto abuso sessuale.
- La prevalenza dell'infezione da HPV in una popolazione può influire sulle prestazioni del test.
- I campioni contenenti meno di 1 ml di soluzione PreservCyt sono considerati inadeguati per il test Xpert HPV.
- Le prestazioni del test Xpert HPV non sono state valutate nei campioni cervicali pretrattati per l'esame citologico utilizzando dispositivi diversi dal dispositivo ThinPrep 2000.
- Un risultato negativo per il test Xpert HPV non esclude la possibilità di anomalie citologiche o di neoplasia CIN2, CIN3 di base o futura, o cancro.
- Il test Xpert HPV rileva il DNA virale E6/E7 degli HPV ad alto rischio di tipo 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68. Questo test non rileva il DNA E6/E7 dei tipi di HPV a basso rischio (es. 6, 11, 42, 43, 44) in quanto non esiste alcuna utilità clinica nel valutare la presenza dei tipi di HPV a basso rischio nel contesto dello screening del tumore cervicale.
- Il rilevamento del DNA dell'HPV ad alto rischio dipende dal numero di copie presenti nel campione di analisi e può essere influenzato dai metodi di prelievo di quest'ultimo, da fattori correlati alla paziente, dallo stadio dell'infezione e dalla presenza di sostanze interferenti.
- L'uso di questo prodotto deve essere limitato al personale addestrato all'uso del test Xpert HPV.
- Questo test può fornire risultati falsi positivi o falsi negativi.
- Mutazioni o polimorfismi nelle regioni che si legano ai primer o alle sonde possono compromettere il rilevamento dei tipi di HPV bersaglio e generare di conseguenza un risultato falso negativo.

16 Prestazioni cliniche

Le caratteristiche prestazionali cliniche del test Xpert HPV sono state valutate in uno studio prospettico multicentrico in due fasi (sette centri statunitensi), al quale hanno partecipato donne di tutte le età con richiesta di esame colposcopico sulla base di uno o più risultati anomali di precedenti Pap test, di un risultato anomalo di Pap test associato a un risultato positivo per l'HPV ad alto rischio, oppure di altri sospetti clinici di tumore cervicale. Durante l'esame colposcopico, da ciascun soggetto sono stati prelevati due campioni ThinPrep (campione A e campione B) da utilizzare per la valutazione citologica e per l'esame comparativo con il test Xpert HPV e due test per l'HPV ad alto rischio approvati dalla FDA. Le analisi con questi metodi comparativi sono state eseguite in base alle istruzioni riportate nei foglietti illustrativi dei relativi test US-IVD. Il campione A è stato trattato per la revisione citologica seguito dall'analisi con il test Xpert HPV. Il campione B è stato riservato per l'analisi dell'HPV eseguita con i test HPV comparativi e con il test Xpert HPV. Entrambi i campioni di analisi sono stati prelevati utilizzando una spatola associata a spazzolino endocervicale in base alle indicazioni riportate nel foglietto illustrativo del ThinPrep. Da ciascun soggetto sono state prelevate un minimo di due biopsie cervicali con bisturi a lama cilindrica (punch biopsy) e per gli esami colposcopici non soddisfacenti in cui la visualizzazione della giunzione squamo-colonnare era scarsa è stato effettuato un raschiamento endocervicale (endocervical curettage, ECC). L'esame istologico dei campioni di analisi ottenuti con biopsia e raschiamento endocervicale (endocervical curettage, ECC) è stato inizialmente condotto a livello locale per gli standard della gestione e la cura delle pazienti e successivamente in modo retrospettivo, in cieco, da un gruppo di tre patologi esperti per determinare lo stato definitivo della patologia cervicale su base comune. La fase I di arruolamento includeva 144 soggetti (fascia di età: 20–70 anni) con 31 casi \geq CIN2. I dati ottenuti nella fase I sono stati utilizzati per stimare un set di cutoff clinici per il test relativi agli endpoint dello stato patologico

≥ CIN2 e ≥ CIN3 utilizzando un approccio basato sulle caratteristiche operative del ricevente (Receiver Operating Characteristic, ROC). La fase II di arruolamento includeva 564 soggetti (fascia di età: 18–75 anni) con 111 casi ≥ CIN2. I dati ottenuti nella fase II sono stati utilizzati per perfezionare i cutoff clinici relativi agli endpoint dello stato patologico ≥ CIN2 e ≥ CIN3 utilizzando un approccio ROC. Con l'approccio retrospettivo è stata condotta un'analisi dell'omogeneità per confermare la possibilità di combinare i risultati (pooling) provenienti dalla fase I e dalla fase II; i risultati possono essere combinati in più parametri di popolazioni e campioni di analisi.

La sensibilità e la specificità clinica del test Xpert HPV, del metodo comparativo 1 e del metodo comparativo 2 nel set di dati della fase II relativi allo stato patologico ≥ CIN2 sono riassunti nella Tabella 2.

Tabella 2. Prestazioni cliniche relative allo stato patologico ≥ CIN2^a

	Test Xpert HPV (campione A)^b	Test Xpert HPV (campione B)^c	Metodo comparativo 1^d	Metodo comparativo 2^e
Sensibilità	(99/109) 90,8% (83,8-95,5%)	(100/110) 90,9% (83,9-95,6%)	(103/111) 92,8% (86,3-96,8%)	(96/111) 86,5% (78,7-92,2%)
Specificità	(182/429) 42,4% (37,7-47,3%)	(194/446) 43,5% (38,8-48,2%)	(178/453) 39,3% (34,8-44,0%)	(212/451) 47,0% (42,3-51,7%)
Valore predittivo positivo	(99/346) 28,6% (23,8-33,7%)	(100/352) 28,4% (23,8-33,4%)	(103/378) 27,2% (22,8-32,0%)	(96/335) 28,7% (23,9-33,8%)
Valore predittivo negativo	(182/192) 94,8% (90,6-97,5%)	(194/204) 95,1% (91,2-97,6%)	(178/186) 95,7% (91,7-98,1%)	(212/227) 93,4% (89,3-96,3%)

^a Le stime puntuali sono quelle indicate. Intervalli di confidenza al 95% secondo il test esatto di Fisher.

^b n = 538. Nove campioni di analisi QNS per il test Xpert; 17 campioni di analisi indeterminati al test iniziale e alla ripetizione del test.

^c n = 556. Otto campioni di analisi indeterminati al test iniziale e alla ripetizione del test.

^d n = 564.

^e n = 562. Due campioni di analisi indeterminati al test iniziale e alla ripetizione del test.

La sensibilità e la specificità clinica del test Xpert HPV, del metodo comparativo 1 e del metodo comparativo 2 nel set di dati della fase II relativi allo stato patologico ≥ CIN3 sono riassunte nella Tabella 3.

Tabella 3. Prestazioni cliniche relative allo stato patologico \geq CIN3^a

	Test Xpert HPV (campione A) ^b	Test Xpert HPV (campione B) ^c	Metodo comparativo 1 ^d	Metodo comparativo 2 ^e
Sensibilità	(68/72) 94,4% (86,4-98,5%)	(69/73) 94,5% (86,6-98,5%)	(71/74) 95,9% (88,6-99,2%)	(64/74) 86,5% (76,5-93,3%)
Specificità	(187/465) 40,2% (35,7-44,8%)	(199/482) 41,3% (39,6-45,8%)	(182/489) 37,2% (32,9-41,7%)	(216/487) 44,4% (39,9-48,9%)
Valore predittivo positivo	(68/346) 19,7% (15,6-24,2%)	(69/352) 19,6% (15,6-24,1%)	(71/378) 18,8% (15,0-23,1%)	(64/335) 19,1% (15,0-23,7%)
Valore predittivo negativo	(187/191) 97,9% (94,7-99,4%)	(199/203) 98,0% (95,0-99,5%)	(182/185) 98,4% (95,3-99,7%)	(216/226) 95,6% (92,0-97,9%)

^a Le stime puntuali sono quelle indicate. Intervalli di confidenza al 95% secondo il test esatto di Fisher.

^b n = 537. Nove campioni di analisi QNS per l'analisi con Xpert; 17 campioni di analisi indeterminati al test iniziale e alla ripetizione del test; consenso sullo stato CIN2 rispetto a CIN3 non raggiunto per un campione di analisi.

^c n = 555. Otto campioni di analisi indeterminati al test iniziale e alla ripetizione del test; consenso sullo stato CIN2 rispetto a CIN3 non raggiunto per un campione di analisi.

^d n = 563. Consenso sullo stato CIN 2 rispetto a CIN 3 non raggiunto per un campione di analisi.

^e n = 561. Due campioni di analisi indeterminati al test iniziale e alla ripetizione del test; consenso sullo stato CIN 2 rispetto a CIN 3 non raggiunto per un campione di analisi.

Una valutazione della concordanza analitica nel set di dati della fase II ha dimostrato una concordanza complessiva tra il test Xpert HPV e se stesso (campione A rispetto a campione B; n = 533 confronti appaiati) del 94,6% (IC al 95% 92,3-96,3; coefficiente statistico K 0,88). La concordanza complessiva tra il test Xpert HPV (campione B) e il metodo comparativo 1 (n = 556 confronti appaiati) è stata del 92,4% (IC al 95% 89,9-94,5; coefficiente statistico K 0,83). La concordanza complessiva tra il test Xpert HPV (campione B) e il metodo comparativo 2 (n = 554 confronti appaiati) è stata dell'87,4% (IC al 95% 84,3-90,0; coefficiente statistico K 0,73).

Le prestazioni cliniche del test Xpert HPV per i campioni A e B del Pap test, suddivise per fascia di età dei soggetti, sono state determinate sia per lo stato patologico \geq CIN2 sia per lo stato patologico \geq CIN3. Le prestazioni cliniche relative allo stato patologico \geq CIN2 sono presentate nella Tabella 4 e le prestazioni cliniche relative allo stato patologico \geq CIN3 sono presentate nella Tabella 5.

Tabella 4. Prestazioni del test Xpert HPV rispetto allo stato patologico \geq CIN2, per fascia di età

Fascia di età	Pap test A		Pap test B	
	Sensibilità (IC al 95%)	Specificità (IC al 95%)	Sensibilità (IC al 95%)	Specificità (IC al 95%)
20-29	95,7% (85,5-99,5)	25,8% (19,1-33,4)	95,7% (85,5-99,5)	32,1% (24,9-39,9)
30-39	91,7% (77,5-98,2)	46,4% (38,3-54,6)	94,6% (81,8-99,3)	44,3% (36,4-52,4)
40-49	88,9% (65,3-98,6)	44,8% (32,6-57,4)	88,9% (65,3-98,6)	45,8% (34,0-58,0)
50-59	71,4% (29,0-96,3)	62,8% (46,7-77,0)	71,4% (29,0-96,3)	64,4% (48,8-78,1)
≥ 60	100% (2,5-100)	33,3% (9,9-65,1)	100% (2,5-100)	30,8% (9,1-61,4)

Tabella 5. Prestazioni del test Xpert HPV rispetto alla malattia \geq CIN3, per fascia di età

Fascia di età	Pap test A		Pap test B	
	Sensibilità (IC al 95%)	Specificità (IC al 95%)	Sensibilità (IC al 95%)	Specificità (IC al 95%)
20-29	96,7% (82,8-99,9)	23,8% (17,7-30,9)	100% (88,4-100)	30,1% (23,4-37,5)
30-39	90,9% (70,8-98,9)	43,1% (35,5-51,0)	91,3% (72,0-98,9)	40,7% (33,3-48,4)
40-49	92,9% (66,1-99,8)	43,7% (31,9-56,0)	92,9% (66,1-99,8)	44,7% (33,3-56,6)
50-59	100% (39,8-100)	62,2% (46,5-76,2)	100% (39,8-100)	63,8% (48,5-77,3)
≥ 60	100% (2,5-100)	33,3% (9,9-65,1)	100% (2,5-100)	30,8% (9,1-61,4)

È stato condotto un secondo studio clinico per valutare le prestazioni del test Xpert HPV nelle popolazioni che più somigliano a quelle a cui è destinato il test, servite da programmi organizzati di screening del cancro cervicale. Si tratta di uno studio multicentrico, con metodo comparativo, nel quale sono stati utilizzati campioni di analisi residui prelevati in PreservCyt e ottenuti da donne di età compresa tra 20 e 60 anni che hanno partecipato ai programmi organizzati di screening del cancro cervicale condotti nel Regno Unito. Con rare eccezioni, tutti i campioni di analisi raccolti in questo studio sono stati prelevati con uno spazzolino in base alle indicazioni riportate nel foglietto illustrativo del ThinPrep. Nello studio sono stati inclusi gli stessi due metodi comparativi, il metodo 1 come metodo comparativo principale e il metodo 2 come metodo comparativo secondario. Le dimensioni dei campioni per lo studio sono state calcolate per due fasce di età (donne tra 20 e 29 anni e donne tra 30 e 60 anni) per supportare la valutazione della concordanza (con IC al 95%) e il calcolo del coefficiente statistico K (con IC al 95%) relativi a ciascun metodo comparativo.

In questo studio, i campioni residui con i risultati degli esami citologici sono stati suddivisi in tre aliquote per la valutazione con il test Xpert HPV e con i metodi comparativi 1 e 2. La sequenza delle aliquote rimosse per l'analisi con il test Xpert HPV e con il metodo comparativo 1 è stata randomizzata in modo che ~50% delle prime aliquote fosse utilizzato per l'analisi con il test Xpert HPV e il 50% delle prime aliquote fosse utilizzato per il metodo comparativo 1. La terza aliquota è stata sempre riservata per l'analisi con il metodo comparativo 2. Indipendentemente dalla sequenza delle aliquote, il flaconcino del campione di analisi originario è stato miscelato prima della rimozione di ciascuna aliquota per garantire l'omogeneità del campione. L'analisi con i metodi comparativi è stata condotta in base ai foglietti illustrativi dei relativi test CE-IVD, che a livello procedurale erano identici ai foglietti illustrativi dei test US-IVD; l'analisi dei risultati utilizza i parametri di cutoff riportati nei foglietti illustrativi dei test US-IVD.

Un'analisi dei dati dello studio ha dimostrato una sostanziale concordanza tra il test Xpert HPV e il metodo comparativo 1. Tale concordanza è indipendente dalla fascia di età dei soggetti (20-29 anni e 30-60 anni) e dallo stato dell'esame citologico [normale (NILM, Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy, ovvero negativo per lesioni intraepiteliali o maligne) o peggiore del normale (peggiore di NILM)]. Un riepilogo della concordanza tra il test Xpert HPV e il metodo comparativo 1 è mostrato nella Tabella 6.

Tabella 6. Concordanza tra il test Xpert HPV e il metodo comparativo 1

Confronto della concordanza	n	Concordanza percentuale positiva	Concordanza percentuale negativa	Concordanza percentuale complessiva	Coeff. statistico K
Totale^a	3.418	90,3% (87,8-92,5%)	97,1% (96,4-97,7%)	95,8% (95,1-96,5%)	0,87 (0,85-0,89)
Età 20–29	833	92,7% (89,4-95,2%)	94,9% (92,6-96,7%)	94,0% (92,2-95,5%)	0,88 (0,84-0,91)
Età 30–60	2.585	87,8% (83,7-91,2%)	97,6% (96,9-98,2%)	96,4% (95,6-97,1%)	0,84 (0,81-0,87)
Esame citologico normale	2.975	85,1% (81,0-88,6%)	97,1% (96,8-98,0%)	95,8% (95,2-96,6%)	0,81 (0,78-0,85)
Esame citologico > normale	443	96,7% (93,9-98,4%)	91,0% (85,1-95,1%)	94,8% (92,3-96,7%)	0,88 (0,83-0,93)

^a Stime dei punti come indicato. Intervalli di confidenza al 95% secondo il test esatto di Fisher.

Un'analisi dei dati dello studio dimostra una buona concordanza tra il test Xpert HPV e il metodo comparativo 2. Tale concordanza è indipendente dalla fascia di età dei soggetti (20-29 anni e 30-60 anni) e dallo stato dell'esame citologico [normale (NILM, Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy, ovvero negativo per lesioni intraepiteliali o maligne) o peggiore del normale (peggiore di NILM)]. Un riepilogo della concordanza tra il test Xpert HPV e il metodo comparativo 2 è riportato nella Tabella 7.

Tabella 7. Concordanza tra il test Xpert HPV e il metodo comparativo 2

Confronto della concordanza	n	Concordanza percentuale positiva	Concordanza percentuale negativa	Concordanza percentuale complessiva	Coeff. statistico K
Totale^a	3.418	84,5% (81,8-87,3%)	96,5% (95,7-97,2%)	94,1% (93,3-94,9%)	0,82 (0,79-0,84)
Età 20-29	833	94,2% (91,1-96,5%)	93,3% (90,7-95,3%)	93,6% (91,8-95,2%)	0,87 (0,83-0,90)
Età 30-60	2.585	76,0% (71,2-80,3%)	97,2% (96,5-97,9%)	94,2% (93,3-95,1%)	0,75 (0,71-0,79)
Esame citologico normale	2.975	77,9% (73,3-82,2%)	96,6% (95,9-97,3%)	94,3% (93,4-95,1%)	0,74 (0,70-0,78)
Esame citologico > normale	443	92,5% (89,0-95,1%)	93,6% (87,8-97,2%)	92,8% (90,0-95,0%)	0,83 (0,77-0,89)

^a Stime dei punti come indicato. Intervalli di confidenza al 95% secondo il test esatto di Fisher.

Come ulteriore misura della concordanza analitica, in questo studio è stato valutato il tasso di positività all'HPV in base allo stato citologico. Nei campioni di analisi di dimensioni simili valutati da ciascun metodo, i tassi di positività all'HPV riportati dai tre metodi di analisi dell'HPV sono simili e generalmente concordanti con i tassi di positività all'HPV riportati nelle altre popolazioni di bassa prevalenza della malattia (es. lo studio ALTS). Un riepilogo dei tassi di positività all'HPV misurati da ciascun metodo in base allo stato citologico è riportato nella Tabella 8.

Tabella 8. Positività all'HPV in base al metodo e allo stato citologico

Categoria (Regno Unito/USA)	Test Xpert HPV			Metodo comparativo 1			Metodo comparativo 2		
	Totale	Pos	% Pos	Totale	Pos	% Pos	Totale	Pos	% Pos
Normale/NILM	2.975	374	12,6	2.975	362	12,2	2.975	367	12,3
Al limite/ASC-US	215	113	52,6	215	108	50,2	215	120	55,8
Discariosi di basso grado (lieve)/LSIL^a	149	116	77,9	149	120	80,5	149	126	84,6
Discariosi di alto grado (moderata)/HSIL^b	28	28	100,0	28	27	96,4	28	28	100,0
Discariosi di alto grado (grave)/HSIL	35	35	100,0	35	34	97,1	35	35	100,0
Altro	16	10	62,5	16	10	62,5	16	9	56,3
Totale	3.418	676	19,9	3.418	661	19,3	3.418	685	20,0

^a Lesione intraepiteliale squamosa di basso grado.

^b Lesione intraepiteliale squamosa di alto grado.

Un sottoinsieme [245/3418 (7,2%)] dei campioni inclusi in questo studio è stato pretrattato con Acido Acetico Glaciale (GAA) prima della valutazione per l'HPV con il test Xpert HPV e i metodi comparativi. Un centro ha utilizzato una versione modificata di una metodologia commerciale [70/1138 (6,2%)] CytoLyt, Hologic, Crawley, UK, EU), mentre gli altri due centri hanno utilizzato procedure sviluppate in laboratorio basate sul metodo Espostis [148/1129 (13,1%) e 22/1151 (1,9%), rispettivamente].¹¹⁻¹³ Il test Xpert HPV dimostra una buona concordanza con i metodi comparativi, indipendentemente dallo stato di pretrattamento con GAA. Vedere la Tabella 9 e la Tabella 10.

Tabella 9. Concordeza tra il test Xpert HPV e il metodo comparatore 1 in campioni pretrattati con GAA^a

Confronto della concordanza	n	Concordeza percentuale positiva	Concordeza percentuale negativa	Concordeza percentuale complessiva	Coeff. statistico K
Pretrattati con GAA	245	94,3% (86,0-98,4%)	96,6% (92,7-98,7%)	95,9% (92,6-98,0%)	0,90 (0,84-0,96)
Non trattati	3.173	89,8% (87,1-92,2%)	97,2% (96,5-97,8%)	95,8% (95,1-96,5%)	0,86 (0,84-0,89)

^a Le stime puntuali sono quelle indicate. Intervalli di confidenza al 95% secondo il test esatto di Fisher.

Tabella 10. Concordeza tra il test Xpert HPV e il metodo comparatore 2 in campioni pretrattati con GAA^a

Confronto della concordanza	n	Concordeza percentuale positiva	Concordeza percentuale negativa	Concordeza percentuale complessiva	Coeff. statistico K
Pretrattati con GAA	245	87,3% (72,3-94,0%)	94,3% (89,7-97,2%)	92,2% (88,2-95,3%)	0,81 (0,73-0,89)
Non trattati	3.173	84,4% (81,2-87,0%)	96,6% (95,9-97,3%)	94,3% (93,4-95,0%)	0,82 (0,79-0,84)

^a Le stime puntuali sono quelle indicate. Intervalli di confidenza al 95% secondo il test esatto di Fisher.

17 Limite di rilevamento

La sensibilità analitica o limite di rilevamento (LoD) del test Xpert HPV è stata valutata utilizzando:

1. Linee cellulari positive all'HPV: HPV 16 (SiHa), HPV 18 (HeLa S3), HPV 45 (MS751) e HPV 68 (ME180) in soluzione PreservCyt contenente come base una linea cellulare negativa all'HPV (C33A).
2. Plasmidi di DNA dei 14 tipi bersaglio di HPV ad alto rischio in una base di DNA genomico umano femminile.

17.1 Linee cellulari positive all'HPV

Il limite di rilevamento (LoD) per HPV 16, HPV 18, HPV 45 e HPV 68 è stato stimato analizzando replicati di 20 a un minimo di sei concentrazioni per ciascuna delle linee cellulari utilizzando un lotto di reagenti del test Xpert HPV. I LoD sono stati stimati con l'analisi probit. I LoD dichiarati sono stati confermati analizzando almeno 20 replicati diluiti alle concentrazioni stimate dei LoD utilizzando tre lotti di reagenti del test Xpert HPV. Il LoD dichiarato è definito come la concentrazione alla quale il 95% di almeno 20 replicati per lotto di reagente risulta positivo (Tabella 11).

17.2 Plasmidi di DNA dell'HPV

Il limite di rilevamento (LoD) per 14 plasmidi di DNA dell'HPV ad alto rischio è stato confermato con un minimo di 60 replicati da due operatori e tre lotti di reagenti. I test sono stati condotti in giornate differenti. Per ciascuno dei plasmidi di DNA dell'HPV è stato determinato il livello (in copie per reazione di PCR) al quale il tasso complessivo di veri positivi è statisticamente maggiore del 95% combinato tra tre lotti di reagenti (Tabella 12).

Tabella 11. Limite di rilevamento: Linee cellulari positive all'HPV

Tipo di HPV	LoD stimato con probit (cellule/ml)	IC al 95%	IC al 99,9%	Livello di conf. (cellule/ml)	Lotto reagente	Pos di 20 rep.	Media Ct (bersaglio)	DS Ct (bersaglio)	Media complessiva Ct (bersaglio)	DS complessiva Ct (bersaglio)	% Pos	% Pos complessiva
16	71	55 – 87	52 – 127	122	Lotto 1	19	35,6	1,0	35,3	1,2	95	95,0
					Lotto 2	19	35,0	1,4			95	
					Lotto 3	19	35,4	1,2			95	
18	46	35 – 56	33 – 90	53	Lotto 1	20	36,0	1,2	35,6	1,1	100	96,7
					Lotto 2	19	35,3	0,9			95	
					Lotto 3	19	35,6	1,1			95	
45	180	150 – 211	142 – 266	173	Lotto 1	19	37,0	1,2	37,1	1,1	95	96,7
					Lotto 2	20	37,0	1,2			100	
					Lotto 3	19	37,4	0,9			95	
68	267	231 – 304	221 – 366	366	Lotto 1	20	35,9	0,6	36,0	0,6	100	96,7
					Lotto 2	19	35,9	0,7			95	
					Lotto 3	20	36,2	0,5			100	

Tabella 12. Limite di rilevamento: Plasmidi di DNA dell'HPV

Bersaglio	Livello di copie analizzato	Conteggio campioni	FN	% Pos	IC al 95% un lato inferiore	Media generale Ct	DS Ct
HPV 35	15	60	0	100	95,1%	33,9	0,426
HPV 39	20	60	0	100	95,1%	36,5	0,352
HPV 45	10	100	0	100	97,0%	35,6	0,533
HPV 51	10	100	0	100	97,0%	35,1	0,587

Bersaglio	Livello di copie analizzato	Conteggio campioni	FN	% Pos	IC al 95% un lato inferiore	Media generale Ct	DS Ct
HPV 52	15	60	0	100	95,1%	34,7	0,543
HPV 56	15	101	0	100	97,1%	36,6	0,525
HPV 58	20	60	0	100	95,1%	33,7	0,412
HPV 59	10	100	0	100	97,0%	35,1	0,618
HPV 66	30	60	0	100	95,1%	36,6	0,33
HPV 68	15	100	0	100	97,0%	36,9	0,445
HPV 16	10	100	0	100	97,0%	35,1	0,559
HPV 18	10	141	1	99,3	96,7%	35,9	0,585
HPV 31	10	100	0	100	97,0%	34,2	0,529
HPV 33	10	100	0	100	97,0%	35,0	0,642

18 Precisione e riproducibilità del saggio

La precisione e la riproducibilità del test Xpert HPV sono state valutate in uno studio multicentrico condotto in 12 giorni, in cui due operatori in ciascuno dei tre centri hanno analizzato in cieco due volte al giorno un pannello di precisione da 16 elementi. Il pannello era composto sia da campioni artificiali (cellule in coltura contenenti vari tipi di HPV in una base di cellule in coltura prive di HPV) sia da un pool di campioni clinici in PreservCyt. Ciascun centro ha utilizzato una diversa configurazione del sistema GeneXpert (un centro ha utilizzato solo GX IV, un centro ha utilizzato un GX XVI e un centro ha utilizzato un Infinity 80). Per ciascun periodo di quattro giorni di analisi dello studio sono stati utilizzati tre lotti del test HPV. Alla fine dello studio, ciascun elemento del pannello di precisione è stato valutato 144 volte. I dati sono riepilogati in base al canale del saggio, rappresentato come 16 per il canale dell'HPV 16, 18/45 per il canale dell'HPV 18 e dell'HPV 45, 31 per il canale dell'HPV 31 e degli altri tipi, 51 per il canale dell'HPV 51 e dell'HPV 59 e 39 per il canale dell'HPV 39 e degli altri tipi. Vedere la Tabella 13 e la Tabella 14.

Tabella 13. Precisione e riproducibilità di Xpert HPV:
Descrizione del pannello e concordanza positiva ^{a,b}

Campione (bersaglio e concentrazione relativa)	Canale del saggio	Centro 1		Centro 2		Centro 3		Concordanza totale
		Op 1	Op 2	Op 1	Op 2	Op 1	Op 2	
Campione di analisi artificiale (HPV 16 negativo alto)	16	83,3% (20/24)	91,7% (22/24)	87,5% (21/24)	82,6% (19/23)	100% (23/23)	83,3% (20/24)	88,0% (125/142)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (142/142)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (142/142)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (142/142)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (142/142)

Campione (bersaglio e concentrazione relativa)	Canale del saggio	Centro 1		Centro 2		Centro 3		Concordanza totale
		Op 1	Op 2	Op 1	Op 2	Op 1	Op 2	
Campione di analisi artificiale (HPV 16 positivo basso)	16	87,5% (21/24)	95,7% (22/23)	95,8% (23/24)	100% (23/23)	95,8% (23/24)	95,8% (23/24)	95,1% (135/142)
	18/45	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	31	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	51	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	39	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
Campione di analisi artificiale (HPV 16 positivo moderato)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (21/21)	95,8% (23/24)	100% (24/24)	99,3% (140/141)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (21/21)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (141/141)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (21/21)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (141/141)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (21/21)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (141/141)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (21/21)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (141/141)
Campione di analisi artificiale (HPV 18 negativo alto)	16	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	18/45	83,3% (20/24)	86,4% (19/22)	79,2% (19/24)	87,5% (21/24)	95,8% (23/24)	91,7% (22/24)	87,3% (124/142)
	31	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	51	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	39	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)

Campione (bersaglio e concentrazione relativa)	Canale del saggio	Centro 1		Centro 2		Centro 3		Concordanza totale
		Op 1	Op 2	Op 1	Op 2	Op 1	Op 2	
Campione di analisi artificiale (HPV 18 positivo basso)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	91,7% (22/24)	95,8% (23/24)	91,7% (22/24)	100% (24/24)	96,5% (139/144)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
Campione di analisi artificiale (HPV 18 positivo moderato)	16	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (141/141)
	18/45	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (141/141)
	31	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (141/141)
	51	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (141/141)
	39	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (141/141)
Campione di analisi artificiale (HPV 68 negativo alto)	16	100% (22/22)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (139/139)
	18/45	100% (22/22)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (139/139)
	31	100% (22/22)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (139/139)
	51	100% (22/22)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (139/139)
	39	90,9% (20/22)	95,5% (21/22)	100% (24/24)	91,3% (21/23)	91,7 (22/24)	91,7 (22/24)	93,5% (130/139)

Campione (bersaglio e concentrazione relativa)	Canale del saggio	Centro 1		Centro 2		Centro 3		Concordanza totale
		Op 1	Op 2	Op 1	Op 2	Op 1	Op 2	
Campione di analisi artificiale (HPV 68 positivo basso)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (141/141)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (141/141)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (141/141)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (141/141)
	39	95,8% (23/24)	95,8% (23/24)	100% (23/23)	87,0% (20/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	96,5% (136/141)
Campione di analisi artificiale (HPV 68 positivo moderato)	16	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	18/45	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	31	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	51	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	95,8% (23/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	39	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	95,8% (23/24)	99,3% (141/142)
Campione di analisi artificiale (HPV 16/45/68 positivo basso)	16	100% (24/24)	100% (23/23)	95,8% (23/24)	95,8% (23/24)	95,7% (22/23)	100% (24/24)	97,9% (139/142)
	18/45	87,5% (21/24)	95,7% (22/23)	79,2% (19/24)	87,5% (21/24)	95,7% (22/23)	95,8% (23/24)	90,1% (128/142)
	31	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (142/142)
	51	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	95,8% (23/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	99,3% (141/142)
	39	91,7% (22/24)	95,7% (22/23)	91,7% (22/24)	91,7% (22/24)	95,7% (22/23)	95,8% (23/24)	93,7% (133/142)
Campione di analisi artificiale (negativo)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (140/140)

Campione (bersaglio e concentrazione relativa)	Canale del saggio	Centro 1		Centro 2		Centro 3		Concordanza totale
		Op 1	Op 2	Op 1	Op 2	Op 1	Op 2	
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (140/140)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (140/140)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (140/140)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (140/140)
Pool di campioni clinici (HPV 16, HPV 31)	16	50,0% (12/24)	20,8% (5/24)	33,3% (8/24)	18,2% (4/22)	8,3% (2/24)	20,8% (5/24)	25,4% (36/142)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	31	20,8% (5/24)	41,7% (10/24)	37,5% (9/24)	50,0% (11/22)	20,8% (5/24)	33,3% (8/24)	33,8% (48/142)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
Pool di campioni clinici (HPV 18, HPV 39)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
	18/45	16,7% (4/24)	20,8% (5/24)	41,7% (10/24)	25,0% (6/24)	12,5% (3/24)	20,8% (5/24)	22,9% (33/144)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
	39	4,2% (1/24)	4,2% (1/24)	0% (0/24)	8,3% (2/24)	0% (0/24)	0% (0/24)	2,8% (4/144)
Pool di campioni clinici (HPV 42, HPV 51, HPV 59)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	95,8% (23/24)	100% (24/24)	99,3% (142/143)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (143/143)

Campione (bersaglio e concentrazione relativa)	Canale del saggio	Centro 1		Centro 2		Centro 3		Concordanza totale
		Op 1	Op 2	Op 1	Op 2	Op 1	Op 2	
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (143/143)
	51	25,0% (6/24)	33,3% (8/24)	29,2% (7/24)	34,8% (8/23)	12,5% (3/24)	16,7% (4/24)	25,2% (36/143)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (143/143)
Pool di campioni clinici (HPV 52)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (142/142)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (142/142)
	31	20,8% (5/24)	41,7% (10/24)	33,3% (8/24)	41,7% (10/24)	8,7% (2/23)	30,4% (7/23)	29,6% (42/142)
	51	95,8% (23/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (142/142)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (142/142)
Pool di campioni clinici (negativo)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)

^a La concordanza per i campioni negativi e negativi alti è mostrata come % negativa; la concordanza per i campioni positivi bassi e positivi moderati è mostrata come % positiva.

^b Nello studio erano inclusi 34 indeterminati totali: HPV 16 neg alto(2); HPV 16 pos basso(2); HPV 18 pos mod(3); HPV 18 neg alto(3); HPV 18 pos mod(3); HPV 68 neg alto(5); HPV 68 pos basso(3); HPV 68 pos mod(2); HPV 16, 45, 68(2); negativo CP(4); HPV 16, 31(2); HPV 42, 51, 59 (1); HPV 52(2); negativo PC(2).

Tabella 14. Riproducibilità di Xpert HPV: Variabilità del Ct per gli elementi del pannello^a

Campione di analisi (bersaglio e concentrazione relativa)	Canale del saggio (analita specifico)	n ^b	Ct medio	Tra siti		Tra operatori		Tra lotti		Tra i giorni		All'interno del Saggio		Totale	
				DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
Campione di analisi artificiale (HPV 16 negativo alto)	16 (16)	12	38,4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Campione di analisi artificiale (HPV 16 positivo basso)	16 (16)	135	35,4	0	0	0,605	1,7	0,425	1,2	0	0	1,003	2,8	1,246	3,5
Campione di analisi artificiale (HPV 16 positivo moderato)	16 (16)	140	34,0	0	0	0,288	0,8	0,211	0,6	0	0	0,972	2,9	1,036	3,0
Campione di analisi artificiale (HPV 18 negativo alto)	18/45 (18)	22	39,2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Campione di analisi artificiale (HPV 18 positivo basso)	18/45 (18)	139	35,9	0	0	0,408	1,1	0,414	1,2	0	0	1,149	3,2	1,287	3,6
Campione di analisi artificiale (HPV 18 positivo moderato)	18/45 (18)	140	34,1	0	0	0	0	0,430	1,3	0,170	0,5	1,049	3,1	1,146	3,4
Campione di analisi artificiale (HPV 68 negativo alto)	39 (68)	116	39,5	0	0	0,811	2,1	0,296	0,7	0	0	1,025	2,6	1,340	3,4
Campione di analisi artificiale (HPV 68 positivo basso)	39 (68)	141	36,2	0,055	0,2	0,362	1,0	0,099	0,3	0,265	0,7	0,703	1,9	0,843	2,3
Campione di analisi artificiale (HPV 68 positivo moderato)	39 (68)	142	34,7	0	0	0,060	0,2	0,196	0,6	0	0	0,789	2,3	0,815	2,3
Campione di analisi artificiale (HPV 16/45/68 positivo basso)	16 (16)	140	35,4	0,042	0,1	0,497	1,4	0,124	0,4	0	0	1,171	3,3	1,278	3,6
	18/45 (45)	133	37,2	0	0	0	0	0,454	1,2	0	0	1,586	4,3	1,649	4,4
	39 (68)	141	36,4	0,056	0,2	0	0	0	0	0,280	0,8	0,876	2,4	0,922	2,5
Campione di analisi artificiale (negativo)	Negativo (HMBS)	140	28,9	0,126	0,4	0,323	1,1	0,115	0,4	0	0	0,714	2,5	0,802	2,8
Pool di campioni clinici (HPV 16, HPV 31)	16 (16)	41	37,5	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	31 (31)	97	38,2	0	0	0	0	0,356	0,9	0,453	1,2	1,411	3,7	1,524	4,0
Pool di campioni clinici (HPV 18, HPV 39)	18 (16)	47	39,7	0,643	1,6	0	0	0	0	1,148	2,9	1,388	3,5	1,913	4,8
	39 (39)	61	39,8	0	0	0,741	1,9	0	0	0	0	1,197	3,0	1,408	3,5
Pool di campioni clinici (HPV 42, HPV 51, HPV 59)	ND (42)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	51 (51)	92	38,9	0,452	1,2	0	0	0	0	0,088	0,2	1,348	3,5	1,424	3,7
	59 (59)	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Pool di campioni clinici (HPV 52)	31 (52)	82	38,2	0,307	0,8	0	0	0	0	0	0	2,738	7,2	2,756	7,2
Pool di campioni clinici (negativo)	Negativo (HMBS)	142	33,3	0,132	0,4	0	0	0,559	1,7	0	0	0,876	2,6	1,047	3,1

^a NA indica dati continui insufficienti per eseguire un'analisi ANOVA.^b Risultati con valori Ct diversi da zero su 144.

19 Specificità analitica

Un pannello di 47 organismi, tra cui batteri, funghi e virus comunemente riscontrati nel tratto urogenitale femminile, nonché 12 tipi di papilloma virus umano strettamente correlati, è stato testato con il test Xpert HPV. Tutti gli organismi sono stati inoculati all'interno di cellule negative all'HPV (C33A) in soluzione PreservCyt e all'interno di cellule negative all'HPV inoculate con cellule positive all'HPV 16 (SiHa) a 3 volte il limite di rilevamento. I microrganismi e le concentrazioni analitiche sono elencati nella Tabella 15. La specificità analitica è stata del 100% e nessuno dei microrganismi ha interferito con il rilevamento dell'HPV 16.

Tabella 15. Pannello di specificità analitica

Organismo	Concentrazione analitica	Organismo	Concentrazione analitica
<i>Bacteroides fragilis</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	3 x 10 ⁶ UFC/ml
<i>Bifidobacterium breve</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 x 10 ⁶ UFC/ml
<i>Candida albicans</i>	4 x 10 ⁶ cellule/ml	Adenovirus	1 x 10 ⁶ TCID ₅₀ /ml
<i>Candida glabrata</i>	1 x 10 ⁸ cellule/ml	Citomegalovirus (CMV)	1 x 10 ⁷ copie/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 x 10 ⁸ EB ^a /ml	Virus di Epstein-Barr (EBV)	1 x 10 ⁷ copie/ml
<i>Clostridium perfringens</i>	3 x 10 ⁷ UFC/ml	Virus dell'epatite B (HBV)	3,6 x 10 ⁶ UI/ml
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1 x 10 ⁷ cellule/ml	Virus dell'epatite C (HCV)	7,62 x 10 ² UI/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	Virus dell'immunodeficienza umana di tipo 1 (HIV-1)	1 x 10 ⁶ copie/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	Virus dell'herpes simplex di tipo 1 (HSV-1)	1 x 10 ⁷ copie/ml
<i>Escherichia coli</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	Virus dell'herpes simplex di tipo 2 (HSV-2)	1 x 10 ⁷ copie/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	8,7 x 10 ⁷ UFC/ml	Papilloma virus umano (HPV) 6	1,25 x 10 ⁷ copie/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	HPV 11	1,25 x 10 ⁷ copie/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1 x 10 ⁷ cellule/ml	HPV 26	1,25 x 10 ⁷ copie/ml
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1 x 10 ⁷ cellule/ml	HPV 30	1,25 x 10 ⁷ copie/ml
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	1 x 10 ⁷ cellule/ml	HPV 34	1,25 x 10 ⁷ copie/ml
<i>Lactobacillus jensenii</i>	3 x 10 ⁷ UFC/ml	HPV 53	1,25 x 10 ⁷ copie/ml
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	HPV 67	1,25 x 10 ⁷ copie/ml
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	HPV 69	1,25 x 10 ⁷ copie/ml
<i>Proteus mirabilis</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	HPV 70	1,25 x 10 ⁷ copie/ml
<i>Proteus vulgaris</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	HPV 73	1,25 x 10 ⁷ copie/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	HPV 82	1,25 x 10 ⁷ copie/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	HPV 85	1,25 x 10 ⁷ copie/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3 x 10 ⁶ UFC/ml		

^a Corpi elementari.

20 Sostanze interferenti

Le sostanze endogene ed esogene potenzialmente interferenti che possono essere presenti nei campioni cervicali sono state valutate relativamente alle prestazioni del test Xpert HPV. Le sostanze sono state diluite singolarmente in cellule negative all'HPV inoculate con cellule positive all'HPV 16 (SiHa) a tre volte il limite di rilevamento. Le sostanze e le concentrazioni analitiche sono elencate nella Tabella 16. L'interferenza è stata osservata con il sangue intero (0,25% v/v) nel campione analitico, ma non è stata osservata con nessuna delle altre sostanze endogene alle concentrazioni analitiche stabilite. Non è stata osservata interferenza con nessuna delle sostanze esogene alle concentrazioni analitiche stabilite, eccetto per la crema contro il prurito Vagisil (0,25% p/v) e con il gel idratante Vagi-Gard (0,5% p/v). Le creme dense possono provocare interruzioni del saggio causate dalla pressione a concentrazioni superiori allo 0,25% p/v nel campione analitico.

Tabella 16. Sostanze potenzialmente interferenti

Sostanza	Concentrazione
Sangue intero	0,25% v/v
Muco	0,15% v/v
Leucociti (PBMC)	1 x 10 ⁵ cellule/ml
Vagisil crema contro il prurito	0,25% p/v
Clotrimazolo crema vaginale	0,25% p/v
Preparazione H crema per emorroidi	0,25% p/v
Miconazole 3	0,25% p/v
Monistat 1	0,25% p/v
Zovirax crema per herpes labiale	0,25% p/v
Vagisil idratante	10% p/v
Vagi-Gard gel idratante	0,5% p/v
KY Jelly lubrificante personale	10% p/v
Yeast Gard lavanda	10% v/v
Delfen schiuma contraccettiva vaginale	10% p/v
VH Essentials lavanda medicata povidone-iodio	10% v/v
Noroforms ovuli vaginali deodoranti	10% p/v

21 Contaminazione da carry-over

È stato condotto uno studio allo scopo di dimostrare che l'impiego delle cartucce chiuse monouso GeneXpert previene la contaminazione da carry-over (trascinamento) nelle sessioni analitiche di campioni negativi, successive a sessioni con campioni caratterizzati da valori positivi molto elevati all'interno dello stesso modulo GeneXpert. Lo studio prevedeva il trattamento di un campione negativo con lo stesso modulo GeneXpert subito dopo il trattamento di un campione positivo molto alto per l'HPV 16 (tale da superare il 95% dei risultati ottenuti dai campioni di analisi delle pazienti malate nella popolazione utilizzata per lo studio). Questo schema di analisi è stato ripetuto 20 volte in due moduli GeneXpert per un totale di 42 sessioni analitiche, che hanno prodotto 20 campioni positivi e 22 campioni negativi. Tutti i 20 campioni positivi sono risultati correttamente positivi all'HPV 16 e tutti i 22 campioni negativi sono risultati correttamente negativi all'HPV.

22 Riferimenti bibliografici

1. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999; 189(1):12-19.
2. Division of STD Prevention (1999). Prevention of genital HPV infection and sequelae: report of an external consultants' meeting. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention. Recuperato il 4 gennaio, 2012.
3. Kjaer SK, van den Brule AJC, Paull G, et al. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ.* 2002; 325(7364): 572-579.
4. De Sanjose S, Quint WG, Alemany L, et al. 2010. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *The Lancet.* 2010; 11(11): doi:10.1016/S1470-2045(10)70230-8.
5. Li N, Franceschi S, Howell-Jones R, Snijders PJF, Clifford GM. Human papillomavirus type distribution in 30.848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer.* 2011;128: 927-935. doi:10.1002/ijc.25396.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. (Fare riferimento all'ultima edizione.)
7. CLSI Publication M29. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. (Fare riferimento all'ultima edizione.)
8. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations, 48th Edition. 2007.
9. REGOLAMENTO (CE) N. 1272/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 16 dicembre 2008 relativo alla classificazione, all'etichettatura e all'imballaggio delle sostanze e delle miscele che modifica e abroga l'elenco delle frasi di prudenza, le direttive 67/548/CEE e 1999/45/CE (che recano modifica al regolamento (CE)).
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012)(29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
11. Coleman DV, Chapman, PA. Preparatory techniques. In *Clinical Cytopathology*. London: Butterworths, 1989: 54.
12. Yam LT, Janckila AJ. A simple method of preparing smears from bloody effusions for cytodiagnosis. *Acta Cytol.* 1983; 27(2):114-118.
13. Bahr GF. Some considerations of basic cell chemistry. In *Compendium on Cytopreparative Techniques*. Tutorials of Cytology. 1974; 3rd Edition: 1.

23 Sede centrale Cepheid

Sede globale

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefono: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

24 Assistenza tecnica

Prima di contattare il Supporto Tecnico di Cepheid, raccogliere le seguenti informazioni:

- Nome del prodotto
- Numero di lotto
- Numero di serie dello strumento
- Messaggi di errore (se presenti)
- Versione del software e, se pertinente, il codice riportato sull'etichetta di servizio del computer

Supporto Tecnico negli Stati Uniti d'America


















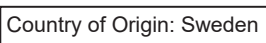
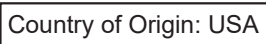
Telefono: + 1 888 838 3222 E-mail: techsupport@cepheid.com

Supporto tecnico in Francia

Telefono: + 33 563 825 319 E-mail: support@cepheideurope.com

Le informazioni di contatto di tutti gli uffici di Supporto Tecnico di Cepheid sono disponibili sul sito web:
www.cepheid.com/en/support/contact-us.

25 Tabella dei simboli

Simbolo	Significato
	Numero di catalogo
	Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>
	Non riutilizzare
	Codice lotto
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Avviso
	Produttore
	Paese di produzione
	Contenuto sufficiente per <i>n</i> test
	Controllo
	Data di scadenza
	Marchio CE - Conformità europea
	Limiti di temperatura
	Rischi biologici
	Attenzione
	Mandataro in Svizzera
	Importatore
	Paese di origine: Svezia
	Paese di origine: Stati Uniti d'America



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



26 Cronologia delle revisioni

Sezione	Descrizione della modifica
Riepilogo e spiegazione	Rimosso il contenuto specifico per UKCA.
Materiale fornito	Chiarita l'origine animale dello stabilizzatore proteico utilizzato nel prodotto.
Saggio/Reagente	Rimosso il contenuto specifico per UKCA.
Pericoli chimici	Rimosso il contenuto specifico per UKCA.
Controllo qualità	Corretto un refuso.
Interpretazione dei risultati	Corretta la nota che segue la Tabella 1 per riferirsi ai saggi.
Prestazioni cliniche	Rimosso il contenuto specifico per UKCA nel testo che segue la Tabella 5. Aggiornate le Tabelle 6, 7, 8, 9 e 10 per allinearle al rapporto rivisto dello studio clinico R082B.
Specificità analitica	Corretto il formato nella Tabella 15.
Sede centrale di Cepheid	Rimosso l'indirizzo della sede centrale europea.
Assistenza tecnica	Rimosso il contenuto specifico per UKCA.
Tabella dei simboli	Aggiunti i simboli per il Paese di origine: Svezia e Stati Uniti d'America. Aggiornati i simboli secondo la norma EN ISO 15223-1:2021.