

Aptima HPV Assay

Pour diagnostic *in vitro*.

Réservé à l'exportation hors États-Unis.

Informations générales	2
Usage prévu	2
Résumé et explication du test	2
Principes de la procédure	3
Avertissements et précautions	4
Conditions de conservation et de manipulation des réactifs	6
Collecte et conservation des échantillons	7
Procédures de contrôle de qualité	21
Interprétation des tests	22
Limites	23
Résultats escomptés avec le Tigris DTS System : prévalence des ARNm (ARN Messenger) des HPV à haut risque	25
Conception de l'étude sur l'essai clinique portant sur le Aptima HPV Assay avec les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep	26
Performances du test sur Tigris DTS System	28
Résultats escomptés avec le Panther Système : prévalence des mRNA (Messenger RNA) des HPV haut risque	57
Conception de l'étude clinique portant sur le Aptima HPV Assay avec les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep	58
Performance du test sur Panther System	60
Bibliographie	85

Tigris™ DTS System	
Tigris DTS System	9
Réactifs et matériels fournis	9
Matériel requis mais disponible séparément	10
Matériel optionnel	11
Procédure de test pour le Tigris DTS System	11
Remarques concernant la procédure	14

Panther™ Système	
Panther Système	15
Réactifs et matériels fournis	15
Matériel requis mais disponible séparément	16
Matériel optionnel	17
Procédure de test pour le Panther Système	17
Remarques concernant la procédure	19

Informations générales

Usage prévu

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

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

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

Résumé et explication du test

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

Le génome viral du HPV est un DNA (Acide désoxyribonucléique) circulaire à double brin long d'environ 7900 paires de base. Ce génome présente huit cadres de lecture ouverts (open reading frames) qui se chevauchent. On dénombre six gènes précoces (E), deux gènes tardifs (L) et une longue région de contrôle non transcrite. Les gènes L1 et L2 codent les protéines principales et secondaires de la capsid. Les gènes précoces régulent la réplication du virus HPV. Les gènes E6 et E7 des génotypes High-Risk HPV sont des oncogènes connus. Les protéines exprimées par le mRNA (Messenger RNA) polycistronique E6/E7 altèrent les fonctions de la protéine du rétinoblastome et de la p53 cellulaire, ce qui entraîne une perturbation des points de contrôle du cycle cellulaire et une instabilité du génome cellulaire.^{5, 6}

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

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

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

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

Principes de la procédure

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

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

Une fois la capture de cible terminée, le mRNA (Messenger RNA) du HPV est amplifié via la TMA, une méthode d'amplification de l'acide nucléique basée sur la transcription qui utilise deux enzymes : la transcriptase inverse MMLV et l'ARN polymérase T7. La transcriptase

inverse sert à générer une copie d'ADN de la séquence de l'ARNm cible contenant une séquence promoteur de l'ARN polymérase T7. L'ARN polymérase produit de multiples copies d'amplicons ARN à partir de la matrice ADN.

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

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

Avertissements et précautions

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

Recommandations concernant les laboratoires

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

Recommandations concernant les échantillons



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

Recommandations concernant les tests

- N. Conservez les réactifs aux températures indiquées. Les résultats du test peuvent être affectés par l'utilisation de réactifs mal conservés.
- O. Évitez de contaminer les réactifs par des microbes ou des ribonucléases.
- P. N'utilisez pas le kit de réactifs après sa date de péremption.
- Q. Veuillez ne pas échanger, mélanger ou combiner les réactifs de test ou les calibrateurs issus de kits portant des numéros de lots différents.
- R. Les liquides des tests Aptima, les réactifs Auto Detect Aptima, le conservateur de liquide système Aptima (Tigris DTS System seulement) et les contrôles de l'Aptima HPV assay (Tigris DTS System seulement) ne font pas partie du lot de référence ; un lot quelconque peut donc être utilisé.
- S. Il est nécessaire de mélanger soigneusement les réactifs du kit pour obtenir des résultats précis.

- T. Des embouts de pipette munies de filtres hydrophobes doivent être utilisées.
- U. Certains réactifs de ce kit sont étiquetés avec des symboles de risque et de sécurité.

Remarque : Les mentions de danger reflètent les classifications des fiches de données de sécurité (FDS) de l'UE. Pour obtenir des informations sur les mentions de danger spécifiques à votre région, consultez la FDS spécifique à la région dans la Bibliothèque des fiches techniques de sécurité (Safety Data Sheet Library) à l'adresse www.hologicsds.com.

Informations relatives aux dangers de l'UE	
	<p>Réactif de sélection ACIDE BORIQUE 1 – 5 % < 1 % d'hydroxyde de sodium ATTENTION H315 – Provoque une irritation cutanée H319 – Provoque une sévère irritation des yeux</p>
	<p>Réactif de capture de cible EDTA 1 – 5 % H411 – Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme P273 – Éviter le rejet dans l'environnement P280 – Porter un équipement de protection des yeux/du visage</p>

Conditions de conservation et de manipulation des réactifs

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

- A. Les réactifs suivants se conservent entre 2 °C et 8 °C (réfrigération) dès leur réception :
- Réactif d'amplification HPV
 - Réactif enzymatique HPV
 - Réactif-sonde HPV
 - Réactif de contrôle interne HPV
 - Calibrateurs HPV positifs et calibrateurs HPV négatifs
 - Contrôles positifs HPV et contrôles négatifs HPV (Tigris DTS System seulement)
- B. Les réactifs suivants se conservent entre 15 °C et 30 °C (à température ambiante) :
- Solution de reconstitution de réactif d'amplification HPV
 - Solution de reconstitution de réactif enzymatique HPV
 - Solution de reconstitution de réactif-sonde HPV
 - Réactif de capture de cible HPV
 - Réactif de sélection HPV
 - Solution de lavage
 - Réactif huileux
 - Tampon pour solution de désactivation
 - Réactif Auto Detect 1
 - Réactif Auto Detect 2
 - Conservateur de liquide système Aptima (Tigris DTS System seulement)

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

Collecte et conservation des échantillons

A. Recueil et traitement des échantillons

Échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep

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

Échantillons de cytologie en milieu SurePath

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

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

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

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

Échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep

1. Transportez les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep entre 2 °C et 30 °C.
2. Les échantillons doivent être transférés dans un tube de transfert d'échantillons Aptima dans les 105 jours suivant le recueil.

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

Échantillons de cytologie en milieu SurePath

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

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

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

C. Échantillons de cytologie en milieu SurePath

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

1. Solution de transfert Aptima

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

D. Conservation des échantillons après la réalisation du test

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

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

Tigris DTS System

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

Réactifs et matériels fournis

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Matériel requis mais disponible séparément

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

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

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

Matériel optionnel

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

Procédure de test pour le Tigris DTS System

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

A. Préparation de la zone de travail

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

B. Préparation des réactifs d'un nouveau kit

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

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

- d. Ouvrez la solution de reconstitution correspondante et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
- e. Tout en tenant le flacon de solution sur la paillasse, insérez fermement l'autre extrémité du collet de reconstitution dans l'ouverture du flacon (figure 1, étape 2).
- f. Retournez délicatement l'assemblage de flacons. Laissez la solution s'écouler depuis le flacon dans le flacon en verre (figure 1, étape 3).
- g. Faites tourner en douceur la solution dans le flacon pour bien la mélanger. Évitez de faire de la mousse en faisant tourner le flacon (figure 1, étape 4).
- h. Attendez que le réactif lyophilisé se dissolve, puis retournez à nouveau les flacons assemblés, en les inclinant à un angle de 45° pour minimiser la formation de mousse (figure 1, étape 5). Laissez la totalité du liquide retourner dans le flacon en plastique.
- i. Retirez le collet de reconstitution et le flacon en verre (figure 1, étape 6).
- j. Rebouchez le flacon en plastique. Enregistrez les initiales de l'opérateur ainsi que la date de reconstitution sur tous les flacons de réactif reconstitué (figure 1, étape 7).
- k. Jetez le collet de reconstitution et le flacon en verre (figure 1, étape 8).

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

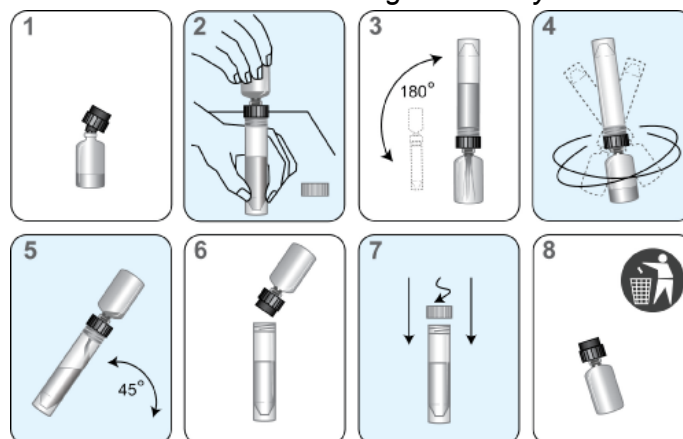


Figure 1. Processus de reconstitution du Tigris DTS System

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

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

3. Préparation du réactif de sélection

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

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

C. Préparation des réactifs antérieurement reconstitués

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

D. Manipulation des échantillons

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

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

E. Préparation du système

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

Remarques concernant la procédure

A. Calibrateurs

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

B. Contrôles

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

C. Température

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

D. Poudre de gant

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

Panther Système

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

Réactifs et matériels fournis

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Matériel requis mais disponible séparément

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

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

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

Matériel optionnel

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

Procédure de test pour le Panther Système

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

A. Préparation de la zone de travail

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

B. Préparation des réactifs d'un nouveau kit

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

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

- i. Retirez le collet de reconstitution et le flacon en verre (figure 2, étape 6).
- j. Rebouchez le flacon en plastique. Enregistrez les initiales de l'opérateur ainsi que la date de reconstitution sur tous les flacons de réactif reconstitué (figure 2, étape 7).
- k. Jetez le collet de reconstitution et le flacon (figure 2, étape 8).

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

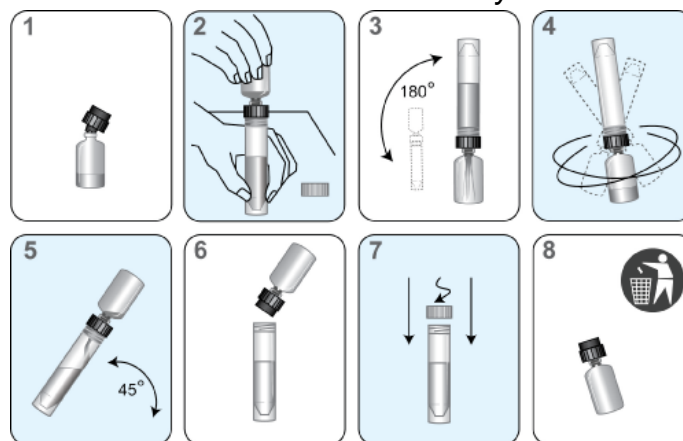


Figure 2. Procédure de reconstitution du Panther Système

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

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

C. Préparation des réactifs antérieurement reconstitués

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

D. Manipulation des échantillons

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

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

E. Préparation du système

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

Remarques concernant la procédure

A. Calibrateurs

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

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

Procédures de contrôle de qualité

A. Critères de validité de la série

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

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

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

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

B. Critères d'acceptation des calibrateurs

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

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

C. Calcul du seuil IC

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

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

D. Calcul du seuil d'analyte

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

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

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

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

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

F. Critères d'acceptation des contrôles (Tigris DTS System seulement)

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

Interprétation des tests

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

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

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

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

Limites

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

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

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

La prévalence des infections au HPV à haut risque varie considérablement et est influencée par plusieurs facteurs, dont le plus important est l'âge.^{32,33} De nombreuses études ont analysé la prévalence du HPV en s'appuyant sur la détection de l'ADN (Acide désoxyribonucléique) du HPV ; cependant, peu d'études évaluent la prévalence en s'appuyant sur la détection des ARNm (ARN messenger) oncogènes des HPV. Des femmes provenant de divers sites cliniques (n = 18), représentant une vaste distribution géographique et une population variée (10 États au sein des États-Unis) ont été incluses dans une étude clinique prospective nommée essai CLEAR.³⁴ La prévalence des échantillons disposant des ARNm (ARN messenger) positifs au HPV observée dans l'essai clinique a été classée de manière globale, par groupe d'âge et par site de test. Les résultats sont indiqués dans le tableau 1 pour les populations avec des atypies des cellules malpighiennes de signification indéterminée (atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US) et les NLIM (négatif aux lésions intra-épithéliales ou malignes).

Tableau 1 : Prévalence des ARNm (ARN messenger) des HPV à haut risque par groupe d'âge, site de test et la combinaison de l'ensemble de ces facteurs

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

S.O. = Sans objet

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

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

Essai CLEAR - Évaluation initiale

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

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

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

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

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

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

Essai CLEAR - Évaluation de suivi

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

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

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

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

Performances du test sur Tigris DTS System

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

L'étude ASC-US a inclus au total 1252 femmes de 21 ans ou plus avec des résultats cytologiques ASC-US. Parmi ces femmes, 294 ont été retirées de l'étude et 19 présentaient un diagnostic pathologique indéterminé ; elles ont toutes été exclues de l'analyse. Les 939 femmes évaluables restantes avaient 21 ans ou plus et disposaient de résultats cytologiques ASC-US, de résultats de Aptima HPV assay et d'un statut pathologique concluant. Quatre-vingt-onze (91) femmes présentaient des résultats ≥ CIN2 et quarante et une (41) des résultats ≥ CIN3. La prévalence des résultats ≥ CIN2 et ≥ CIN3 chez les femmes évaluables avec des résultats cytologiques ASC-US était respectivement de 9,7 % et de 4,4 %. Les résultats du Aptima HPV assay par rapport aux diagnostics du Panel D'examen Histologique Consensuel sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Population ASC-US ≥ 21 ans : résultats du Aptima HPV assay par rapport au diagnostic du panel d'examen histologique consensuel

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

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

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

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

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

Dans le tableau 3 sont indiquées les estimations de performance clinique du Aptima HPV assay, incluant la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive (Valeur prédictive positive, VPP) et la valeur prédictive négative (valeur prédictive négative, VPN) pour la détection de ≥ CIN2 et ≥ CIN3 d'après l'évaluation de l'ensemble des biopsies, dont les biopsies dirigées uniquement, ainsi que les estimations du test HPV ADN disponible dans le commerce.

Tableau 3 : Population ASC-US ≥ 21 ans : performance du Aptima HPV assay et du test HPV ADN pour la détection de ≥ CIN2 et ≥ CIN3

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

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

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

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

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

Les estimations de performance clinique du Aptima HPV assay et du test DNA HPV disponible dans le commerce sont indiquées par groupe d'âge dans le tableau 4 et le tableau 5 (\geq CIN2 et \geq CIN3, respectivement, fondé sur l'évaluation de la totalité des biopsies).

Tableau 4 : Population ASC-US ≥ 21 ans : performance du Aptima HPV assay et d'un test HPV ADN pour la détection de ≥ CIN2 par groupe d'âge

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

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

Tableau 5 : Population ASC-US ≥ 21 ans : performance du Aptima HPV assay et d'un test HPV ADN dans la détection de ≥ CIN3 par groupe d'âge

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

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

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

Tableau 6 : Population ASC-US \geq 21 ans : risques absolu et relatif de \geq CIN2 et \geq CIN3 d'après les résultats de Aptima HPV assay et d'un test HPV ADN

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

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

Les estimations de risques absolu et relatif de maladie (\geq CIN2 et \geq CIN3, fondées sur l'évaluation de la totalité des biopsies) selon le Aptima HPV assay et le test DNA HPV disponible dans le commerce sont indiquées par groupe d'âge dans le tableau 7.

Tableau 7 : Population ASC-US \geq 21 ans : risques absolu et relatif de \geq CIN2 et \geq CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV assay et d'un test HPV ADN par groupe d'âge

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

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

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

Au total, 11 644 femmes avec des résultats cytologiques NLIM ont été incluses dans l'étude NLIM. Parmi celles-ci, 773 ont été retirées et exclues de l'évaluation initiale. Les 10 871 femmes évaluables restantes étaient âgées de 30 ans ou plus et disposaient de résultats cytologiques NLIM et de résultats de Aptima HPV assay. Parmi les 540 femmes avec des résultats positifs avec le Aptima HPV assay, 335 ont subi une colposcopie. Sur les 10 331 femmes avec des résultats négatifs avec le Aptima HPV assay, 530 ont subi une colposcopie. Vingt (20) femmes présentaient des lésions ≥ CIN2 et onze (11) des lésions ≥ CIN3 ; 799 femmes présentaient une histologie normale/CIN1 ; 46 femmes avaient un statut pathologique indéterminé. Les résultats du Aptima HPV assay par rapport au diagnostic du Panel D'examen Histologique Consensuel sont présentés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Population NLIM ≥ 30 ans : résultats du Aptima HPV assay et du test HPV ADN par le panel d'examen histologique consensuel lors de l'évaluation initiale

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

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

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

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

Au total, 10 052 femmes présentaient un statut pathologique non vérifié (incluant les statuts indéterminés) (tableau 9). La proportion de femmes avec un statut pathologique non vérifié était élevé dans ce groupe (96,6 %) puisque seules les femmes sélectionnées aléatoirement, disposant de résultats négatifs au Aptima HPV assay et au test DNA HPV disponible dans le commerce, ont été orientées vers une colposcopie. Pour corriger ce biais de vérification, une méthode d'imputation multiple a été utilisée pour estimer le nombre de femmes malades qui aurait été identifié si l'ensemble des femmes avaient subi une colposcopie. Les estimations de performance corrigées pour tenir compte du biais de vérification et les estimations de performance non corrigées basées sur les 819 femmes disposant d'un statut pathologique vérifié ont été présentées.

Tableau 9 : Population NLIM ≥ 30 ans : classification des femmes NLIM évaluables d'après les résultats du Aptima HPV assay et du test DNA HPV, le statut pathologique (≥ CIN2 et ≥ CIN3) et le statut de vérification de la maladie

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

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

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

La prévalence corrigée de \geq CIN2 et \geq CIN3 chez les femmes avec des résultats cytologiques NLIM était respectivement de 0,9 % et 0,4 %. Les estimations corrigées des risques absolu et relatif pour la détection de \geq CIN2 et \geq CIN3 sont indiquées dans le tableau 10. Le risque relatif corrigé de \geq CIN2 était de 8,1 (IC à 95 % : 2,3 ; 28,1), indiquant qu'une femme avec des résultats positifs avec le Aptima HPV assay a 8,1 fois plus de risques de développer des lésions \geq CIN2 qu'une femme dont les résultats du Aptima HPV assay sont négatifs. Le risque relatif corrigé de \geq CIN3 était de 34,5 (IC à 95 % : 2,7 ; 443,3). Les estimations non corrigées des risques absolu et relatif pour la détection de \geq CIN2 et \geq CIN3 sont indiquées de manière globale dans le tableau 11 et par groupe d'âge dans le tableau 12.

Tableau 10 : Population NLIM \geq 30 ans : risques absolu et relatif de \geq CIN2 et \geq CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV assay et d'un test DNA HPV (estimations corrigées pour tenir compte du biais de vérification)

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

Tableau 11 : Population NLIM \geq 30 ans : risques absolu et relatif de \geq CIN2 et \geq CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV assay et d'un test DNA HPV (estimations non corrigées)

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

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

Tableau 12 : Population NLIM ≥ 30 ans : risques absolu et relatif de ≥ CIN2 et ≥ CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV assay et d'un test DNA HPV par groupe d'âge (estimations non corrigées)

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

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

Les estimations corrigées de performance clinique du Aptima HPV assay, incluant la sensibilité, la spécificité, le PPV et le NPV dans la détection de \geq CIN2 et \geq CIN3 sont indiquées dans le tableau 13, ainsi que les estimations du test DNA HPV disponible dans le commerce. Les estimations non corrigées de performance clinique sont indiquées dans le tableau 14. Le Aptima HPV assay et le test DNA HPV disponible dans le commerce ont montré une sensibilité similaire ; en revanche, la spécificité était nettement plus élevée pour le Aptima HPV assay (les IC à 95 % ne se chevauchent pas). Les estimations du coefficient de prévision du Aptima HPV assay étaient cliniquement cohérentes et similaires aux estimations du test DNA HPV disponible dans le commerce. Les NPV étaient similaires ; cependant, pour la détection de \geq CIN2, le PPV du Aptima HPV assay était légèrement supérieur au PPV du test DNA HPV disponible dans le commerce (4,7 % contre 3,7 %).

Tableau 13 : Population NLIM \geq 30 ans : performance du Aptima HPV assay et d'un test DNA HPV pour la détection de \geq CIN2 et \geq CIN3 (estimations corrigées pour tenir compte du biais de vérification)

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

Tableau 14 : Population NLIM ≥ 30 ans : performance du Aptima HPV assay et d'un test DNA HPV pour la détection de ≥ CIN2 et ≥ CIN3 (estimations non corrigées)

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

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

La comparaison directe du Aptima HPV assay et du test HPV ADN disponible dans le commerce démontre une sensibilité similaire et une amélioration statistiquement significative de la spécificité du Aptima HPV assay pour la détection de \geq CIN2 par rapport au test HPV ADN disponible dans le commerce, comme l'indiquent les ratios des taux de vrais positifs et de faux positifs (tableau 15 et tableau 16, respectivement).

Tableau 15 : Population NLIM \geq 30 ans : ratio des taux de vrais positifs (Aptima HPV assay/test HPV ADN) chez les femmes avec \geq CIN2 (estimations non corrigées)

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

Tableau 16 : Population NLIM \geq 30 ans : ratio des taux de faux positifs (Aptima HPV assay/test HPV ADN) chez les femmes avec $<$ CIN2 (estimations non corrigées)

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

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

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

Parmi les 10 854 femmes, 540 (5,0 %) ont enregistré des résultats positifs au Aptima HPV assay lors de l'évaluation initiale. Parmi les 540 femmes, 263 (48,7 %) ont présenté un statut de la maladie sur 3 ans positif ou négatif d'après les résultats cytologiques ou coloscopiques/cytologiques. Les 10 314 autres femmes ont enregistré des résultats négatifs au Aptima HPV assay lors de l'évaluation initiale. Parmi les 10 314 femmes, 5 943 (57,6 %) ont présenté un statut de la maladie sur 3 ans positif ou négatif. Parmi les 6 206 femmes au statut de la maladie sur 3 ans, 47 d'entre elles ont présenté ≥CIN2, dont 23 avec ≥CIN3 ; 6 159 femmes ont présenté des résultats normaux/CIN1 par le panel d'examen histologique consensuel. Le Tableau 17 affiche les résultats de l'évaluation initiale au Aptima HPV assay et au test HPV ADN disponible dans le commerce, ainsi que le statut de la maladie sur 3 ans (y compris l'évaluation initiale et l'évaluation de suivi) par le panel d'examen histologique consensuel.

Tableau 17 : population NLIM ≥ 30 ans : classification des femmes admissibles à la phase de suivi d'après les résultats de l'évaluation initiale au Aptima HPV assay, les résultats de l'évaluation initiale au test HPV ADN et le statut de la maladie (≥CIN2, ≥CIN3, Non vérifié), comme déterminé dans les phases d'évaluation initiale et de suivi

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

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

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

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

Les estimations des risques absolus et relatifs cumulatifs sur 3 ans pour la détection des \geq CIN2 et \geq CIN3 sont présentées dans le tableau 18.

Tableau 18: opulation NLIM \geq 30 ans : risques absolus et relatifs cumulatifs sur 3 ans* de \geq CIN2 et \geq CIN3 pour les résultats au Aptima HPV Assay et à un Test HPV ADN lors de l'évaluation initiale

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

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

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

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

Échantillons SurePath traités avec la solution de transfert Aptima

Des échantillons de cytologie en milieu liquide SurePath (n = 558) ont été collectés auprès de femmes canadiennes lors d'une consultation de suivi en raison d'un ou plusieurs frottis anormaux, d'une infection HPV ou d'autres motifs. Un aliquot (0,5 ml) de chaque échantillon a été transféré dans un tube de transfert d'échantillons Aptima puis traité à l'aide de la solution de transfert Aptima. Un seul réplicat de chaque échantillon a été testé avec l'Aptima HPV assay. Un aliquot distinct (1 ml) de chaque échantillon a été prélevé afin d'être évalué à l'aide d'un test de détection de HPV par PCR disponible dans le commerce. La sensibilité clinique pour la détection de la pathologie, définie comme un résultat histologique de grade CIN3 ou plus, a été calculée pour l'Aptima HPV assay et le test de détection de HPV par PCR grâce aux coefficients de prévision positifs et négatifs, comme illustré dans le tableau 19.

Tableau 19 : Performances de l'Aptima HPV assay et d'un test de détection de HPV par PCR pour la détection de lésions de grade CIN3 ou plus

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

Tableau 20 : Sensibilité du Aptima HPV assay avec les échantillons cytologiques en milieu liquide SurePath et ThinPrep

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

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

Des échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep et des échantillons recueillis dans des CSCT ont été appariés et recueillis sur 735 sujets. Un millilitre (1,0 ml) de chaque échantillon cytologique en milieu liquide ThinPrep a été dilué dans 2,9 ml de milieu pour transport d'échantillon Aptima et un seul réplicat a été testé avec le Aptima HPV assay sur le Tigris DTS System. Un seul réplicat de chaque échantillon CSCT a été également testé avec le Aptima HPV assay. Le pourcentage de concordance du Aptima HPV assay entre l'échantillon cytologique en milieu liquide ThinPrep et l'échantillon CSCT a été établi et les résultats sont indiqués dans le tableau 21.

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

Tableau 21 : Concordance globale des résultats du Aptima HPV assay obtenus avec les échantillons cytologiques en milieu liquide ThinPrep et ceux du kit de collecte et de transport pour échantillon cervical testé sur le Tigris DTS System

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

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

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

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

Coefficient Kappa = 0,90

Sensibilité analytique

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

Les résultats de l'analyse Probit, dans le tableau 22, montrent que les types de HPV 16, 18, 31, 33, 35, 38, 45, 58, 59 et 68 avaient des seuils de détection de 95 % inférieurs à 100 copies/réaction et que les types 51, 52, 56 et 66 avaient des seuils de détection de 95 % entre 100 et 300 copies/réaction. Les seuils de détection de 95 % des quatre lignées cellulaires testées étaient inférieurs à 1 cellule/réaction.

Tableau 22 : Seuil de détection du seuil clinique pour le Aptima HPV assay

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

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

Précision du test

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

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

Les échantillons du panel sont décrits dans le tableau 23a (échantillons du panel avec résultats positifs prévus) et le tableau 23b (échantillons du panel avec résultats négatifs prévus), accompagnés d'un résumé de la concordance avec les résultats prévus et les valeurs de S/CO d'analyte au 2,5e, 50e et 97,5e percentiles de la distribution du S/CO. La variabilité du S/CO d'analyte pour les échantillons du panel avec des résultats positifs prévus est indiquée dans le tableau 24 pour l'étude 1 et dans le tableau 25 pour l'étude 2.

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

Tableau 23a : Études 1 et 2 de reproductibilité du Aptima HPV assay : description du panel, concordance positive et distribution des percentiles des valeurs du S/CO d'analyte pour les échantillons du panel avec résultats positifs prévus

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

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

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

Tableau 23b : Études 1 et 2 de reproductibilité du Aptima HPV assay : description du panel, concordance négative et distribution des percentiles des valeurs du S/CO d'analyte pour les échantillons du panel avec résultats négatifs prévus

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

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

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

Tableau 24 : Étude 1 de reproductibilité du Aptima HPV assay : variabilité du signal pour les échantillons du panel avec résultats positifs prévus

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

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

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

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

Tableau 25 : Étude 2 de reproductibilité du Aptima HPV assay : variabilité du signal pour les échantillons du panel avec résultats positifs prévus

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

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

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

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

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

Les échantillons du panel sont décrits dans le tableau 26 accompagnés d'un résumé de la concordance avec les résultats et les valeurs du S/CO d'analyte prévus au 2,5e, 50e et

97,5e percentiles de la distribution du signal. La variabilité du S/CO d'analyte pour les échantillons du panel avec des résultats positifs prévus est indiquée dans le tableau 27.

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

Tableau 26 : Étude 3 de reproductibilité du Aptima HPV assay : description du panel, pourcentage de concordance

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

Tableau 27 : Étude 3 de reproductibilité du Aptima HPV assay : analyse du signal pour les échantillons du panel avec résultats positifs prévus

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

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

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

Réactivité croisée

La spécificité analytique du Aptima HPV assay a été évaluée avec le milieu PreservCyt dilué à 1:2,9 dans le STM, auquel ont été ajoutées des cultures de bactéries, de levures ou de champignons microscopiques, ainsi que des cultures de virus ou des transcrits *in vitro* de HPV à faible risque. Les organismes et les concentrations testées sont identifiés dans le tableau 28. Les critères de l'étude pour évaluer l'effet de la présence de microorganismes sur la spécificité du test se sont appuyés sur le taux de positivité. Une réactivité croisée a été observée avec les génotypes du HPV à faible risque 26, 67, 70 et 82 ; en revanche aucune réactivité croisée n'a été observée avec les autres organismes testés.

Tableau 28 : Panel de spécificité analytique : Organismes et concentration ne présentant pas de réactivité croisée

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

Tableau 28 : Panel de spécificité analytique : Organismes et concentration ne présentant pas de réactivité croisée (*suite*)

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

pv = particules virales

UFC = unité formant colonie

TCID₅₀ = dose infectant 50 % des cultures tissulaires

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

La sensibilité analytique du Aptima HPV assay en présence de microorganismes a été évaluée avec le même panel que celui décrit dans le tableau 28, auquel a également été ajouté une faible concentration de cellules SiHa infectées par HPV (1 cellule par réaction). Les critères de l'étude pour évaluer l'effet de la présence de microorganismes sur la sensibilité du test se sont appuyés sur le taux de positivité. Aucun des autres organismes testés n'a affecté la sensibilité du Aptima HPV assay.

Interférence

Les substances décrites dans le tableau 29 ont été individuellement ajoutées à la solution PreservCyt à 1 % et à 10 % v/v ou p/v, diluées avec du STM puis testées avec le Aptima HPV assay. Toutes les substances ont été testées en la présence ou l'absence de cellules de culture infectées par HPV (SiHa, 3 cellules/réaction). Des interférences ont été observées avec deux des sept lubrifiants contenant du Polyquaternium 15 et l'un des cinq médicaments antifongique contenant du tioconazole. Il n'a été relevé aucune interférence avec les autres substances testées.

Tableau 29 : Substances testées pour évaluer d'éventuelles interférences avec le Aptima HPV assay

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

*Lubrifiants personnels contenant du Polyquaternium 15.

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

La prévalence d'une infection par HPV à haut risque varie considérablement et est influencée par plusieurs facteurs, dont le plus important est l'âge.^{32,33} De nombreuses études ont analysé la prévalence du HPV telle que déterminée par la détection du DNA (Acide désoxyribonucléique) du HPV, néanmoins peu d'études indiquent la prévalence en fonction de la détection du mRNA (Messenger RNA) oncogène du HPV. Des femmes provenant de divers sites cliniques (n = 18), représentant une vaste distribution géographique et une population variée (10 États au sein des États-Unis) ont été incluses dans l'essai CLEAR, une étude clinique prospective.³⁴ Tel que déterminée par le Aptima HPV assay réalisé sur le Panther Système, la prévalence des échantillons positifs pour le mRNA (Messenger RNA) du HPV observée dans l'essai clinique a été classée de manière globale, par groupe d'âge et par site de test. Les résultats sont indiqués dans le tableau 30 pour les populations avec des atypies des cellules malpighiennes de signification indéterminée (atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US) et NILM (négatives aux lésions intra-épithéliales ou malignes).

Tableau 30 : Prévalence des ARNm (ARN Messenger) du HPV à haut risque par groupe d'âge, par site de test et tous facteurs combinés

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

S.O. = sans objet

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

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

Essai CLEAR - Évaluation initiale

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

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

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

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

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

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

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

Essai CLEAR - Évaluation de suivi

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

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

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

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

Performance du test sur Panther System

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

Au total, 1252 femmes âgées de 21 ans ou plus, avec des résultats cytologiques d'ASC-US ont été incluses dans l'étude ASC-US ; parmi celles-ci, 294 ont été retirées de l'étude. Les 958 femmes restantes étaient éligibles pour être testées avec le Panther Système. Les échantillons de deux femmes ont été perdus et 19 présentaient un diagnostic pathologique indéterminé ; elles ont toutes été exclues de l'analyse. Les 937 femmes évaluables restantes avaient 21 ans et plus et des résultats cytologiques d'ASC-US ainsi que des résultats avec le Aptima HPV assay sur le Panther Système et un statut pathologique concluant. Quatre-vingt-onze (91) femmes présentaient des lésions ≥ CIN2 et quarante-et-une (41) des lésions ≥ CIN3. La prévalence des lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3 chez les femmes évaluables avec un résultat cytologique d'ASC-US s'élevait respectivement à 9,7 % et 4,4 %. Les résultats du Aptima HPV assay par rapport aux diagnostics du panel d'examen histologique consensuel sont indiqués dans le tableau 31.

Tableau 31 : Population ASC-US ≥ 21 ans : résultats du Aptima HPV assay par rapport au diagnostic du panel d'examen histologique consensuel

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

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

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

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

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

Les estimations de performance clinique du Aptima HPV assay, notamment la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive (VPP) et la valeur prédictive négative (VPN), dans la détection des lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3 d'après l'évaluation de toutes les biopsies et incluant les biopsies dirigées uniquement, sont indiquées dans le tableau 32 ainsi que les estimations pour le test HPV ADN disponible dans le commerce.

Tableau 32 : Population ASC-US ≥ 21 ans : performances du Aptima HPV assay et d'un test HPV ADN pour la détection des lésions ≥CIN2 et ≥CIN3

	Performances	Aptima HPV Assay N = 937		Test HPV ADN N = 863*	
		Estimation	(IC à 95 %)	Estimation	(IC à 95 %)
≥ CIN2	Toutes les biopsies				
	Sensibilité (%)	84,6 (77/91)	(75,8, 90,6)	88,8 (79/89)	(80,5, 93,8)
	Spécificité (%)	62,1 (525/846)	(58,7, 65,3)	55,8 (432/774)	(52,3, 59,3)
	VPP (%)	19,3 (77/398)	(17,3, 21,2)	18,8 (79/421)	(17,0, 20,4)
	VPN (%)	97,4 (525/539)	(96,0, 98,5)	97,7 (432/442)	(96,2, 98,8)
	Prévalence (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)	
	Biopsies dirigées**				
	Sensibilité (%)	90,0 (54/60)	(79,9, 95,3)	93,2 (55/59)	(83,8, 97,3)
	Spécificité (%)	60,8 (531/874)	(57,5, 63,9)	54,5 (437/802)	(51,0, 57,9)
	VPP (%)	13,6 (54/397)	(12,0, 15,0)	13,1 (55/420)	(11,7, 14,2)
	VPN (%)	98,9 (531/537)	(97,8, 99,6)	99,1 (437/441)	(97,9, 99,7)
	Prévalence (%)	6,4 (60/934)		6,9 (59/861)	
	≥ CIN3	Toutes les biopsies			
Sensibilité (%)		90,2 (37/41)	(77,5, 96,1)	92,3 (36/39)	(79,7, 97,3)
Spécificité (%)		59,7 (535/896)	(56,5, 62,9)	53,3 (439/824)	(49,9, 56,7)
VPP (%)		9,3 (37/398)	(8,0, 10,3)	8,6 (36/421)	(7,4, 9,4)
VPN (%)		99,3 (535/539)	(98,3, 99,8)	99,3 (439/442)	(98,3, 99,8)
Prévalence (%)		4,4 (41/937)		4,5 (39/863)	
Biopsies dirigées**					
Sensibilité (%)		93,1 (27/29)	(78,0, 98,1)	96,4 (27/28)	(82,3, 99,4)
Spécificité (%)		59,1 (535/906)	(55,8, 62,2)	52,8 (440/834)	(49,4, 56,1)
VPP (%)		6,8 (27/398)	(5,7, 7,5)	6,4 (27/421)	(5,5, 7,0)
VPN (%)		99,6 (535/537)	(98,8, 100)	99,8 (440/441)	(98,9, 100)
Prévalence (%)		3,1 (29/935)		3,2 (28/862)	

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

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

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

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

Les estimations de performance clinique du Aptima HPV assay et du test HPV ADN disponible dans le commerce sont indiquées par groupe d'âge dans le tableau 33 et le tableau 34 (lésions \geq CIN2 et \geq CIN3 respectivement, basé sur l'évaluation de toutes les biopsies).

Tableau 33 : Population ASC-US ≥ 21 ans : performances de l'Aptima HPV assay et d'un test DNA HPV pour la détection des lésions ≥CIN2 par groupe d'âge

	Performances	Aptima HPV Assay N = 937		Test HPV ADN N = 863*	
		Estimation	(IC à 95 %)	Estimation	(IC à 95 %)
21 à 29 ans		N = 415		N = 389	
	Sensibilité (%)	88,5 (54/61)	(78,2, 94,3)	94,9 (56/59)	(86,1, 98,3)
	Spécificité (%)	44,9 (159/354)	(39,8, 50,1)	35,5 (117/330)	(30,5, 40,8)
	VPP (%)	21,7 (54/249)	(19,3, 23,9)	20,8 (56/269)	(19,0, 22,5)
	VPN (%)	95,8 (159/166)	(92,3, 98,1)	97,5 (117/120)	(93,6, 99,4)
	Prévalence (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
30 à 39 ans		N = 261		N = 238	
	Sensibilité (%)	85,0 (17/20)	(64,0, 94,8)	80,0 (16/20)	(58,4, 91,9)
	Spécificité (%)	66,4 (160/241)	(60,2, 72,1)	61,9 (135/218)	(55,3, 68,1)
	VPP (%)	17,3 (17/98)	(13,1, 21,1)	16,2 (16/99)	(11,8, 19,8)
	VPN (%)	98,2 (160/163)	(95,7, 99,6)	97,1 (135/139)	(94,1, 99,1)
	Prévalence (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
≥ 40 ans		N = 261		N = 236	
	Sensibilité (%)	60,0 (6/10)	(31,3, 83,2)	70,0 (7/10)	(39,7, 89,2)
	Spécificité (%)	82,1 (206/251)	(76,9, 86,3)	79,6 (180/226)	(73,9, 84,4)
	VPP (%)	11,8 (6/51)	(5,6, 17,7)	13,2 (7/53)	(6,9, 18,7)
	VPN (%)	98,1 (206/210)	(96,6, 99,4)	98,4 (180/183)	(96,6, 99,6)
	Prévalence (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	

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

Tableau 34 : Population ASC-US ≥ 21 ans : performances du Aptima HPV assay et d'un test HPV ADN pour la détection des lésions ≥CIN3 par groupe d'âge

	Performances	Aptima HPV Assay N = 937		Test HPV ADN N = 863*	
		Estimation	(IC à 95 %)	Estimation	(IC à 95 %)
21 à 29 ans		N = 415		N = 389	
	Sensibilité (%)	96,3 (26/27)	(81,7, 99,3)	100 (25/25)	(86,7, 100)
	Spécificité (%)	42,5 (165/388)	(37,7, 47,5)	33,0 (120/364)	(28,3, 38,0)
	VPP (%)	10,4 (26/249)	(9,0, 11,5)	9,3 (25/269)	(8,2, 10,0)
	VPN (%)	99,4 (165/166)	(97,2, 100)	100 (120/120)	(97,5, 100)
	Prévalence (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
30 à 39 ans		N = 261		N = 238	
	Sensibilité (%)	88,9 (8/9)	(56,5, 98,0)	77,8 (7/9)	(45,3, 93,7)
	Spécificité (%)	64,3 (162/252)	(58,2, 69,9)	59,8 (137/229)	(53,4, 66,0)
	VPP (%)	8,2 (8/98)	(5,0, 10,1)	7,1 (7/99)	(4,0, 9,2)
	VPN (%)	99,4 (162/163)	(97,6, 100)	98,6 (137/139)	(96,4, 99,8)
	Prévalence (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
≥ 40 ans		N = 261		N = 236	
	Sensibilité (%)	60,0 (3/5)	(23,1, 88,2)	80,0 (4/5)	(37,6, 96,4)
	Spécificité (%)	81,3 (208/256)	(76,0, 85,6)	78,8 (182/231)	(73,1, 83,6)
	VPP (%)	5,9 (3/51)	(1,6, 9,7)	7,5 (4/53)	(2,9, 10,7)
	VPN (%)	99,0 (208/210)	(98,0, 99,9)	99,5 (182/183)	(98,2, 100)
	Prévalence (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

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

Le risque absolu de maladie (lésions \geq CIN2 et \geq CIN3, fondé sur l'évaluation de toutes les biopsies) d'après les résultats du Aptima HPV assay, et le risque relatif de maladie pour les résultats positifs et négatifs du Aptima HPV assay, sont indiqués dans le tableau 35 ainsi que les estimations pour le test DNA HPV disponible dans le commerce. Le risque relatif de lésion \geq CIN2 était de 7,4 (IC à 95 % : 4,3 ; 13,0), indiquant qu'une femme dont le résultat était positif avec le Aptima HPV assay avait 7,4 fois plus de risques d'avoir une lésion \geq CIN2 qu'une femme dont le résultat Aptima HPV assay était négatif. Le risque relatif de lésion \geq CIN3 était de 12,5 (IC à 95 % : 4,5 ; 34,9).

Tableau 35 : Population NILM \geq 30 ans : risques absolu et relatif de lésions \geq CIN2 et \geq CIN3 d'après les résultats de l'Aptima HPV assay et d'un test DNA HPV

	Résultat du test	Aptima HPV Assay N = 937		Test DNA HPV N = 863*	
		Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)	Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)
\geq CIN2	Positif	19,3 (77/398) (17,3, 21,2)	7,4 (4,3, 13,0)	18,8 (79/421) (17,0, 20,4)	8,3 (4,4, 15,8)
	Négatif	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)		2,3 (10/442) (1,2, 3,8)	
	Prévalence (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)	
\geq CIN3	Positif	9,3 (37/398) (8,0, 10,3)	12,5 (4,5, 34,9)	8,6 (36/421) (7,4, 9,4)	12,6 (3,9, 40,6)
	Négatif	0,7 (4/539) (0,2, 1,7)		0,7 (3/442) (0,2, 1,7)	
	Prévalence (%)	4,4 (41/937)		4,5 (39/863)	

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

Les estimations de risque absolu et relatif de maladie (lésions \geq CIN2 et \geq CIN3, fondées sur l'évaluation de toutes les biopsies), d'après le Aptima HPV assay et le test HPV ADN disponible dans le commerce, sont indiquées par groupe d'âge dans le tableau 36.

Tableau 36 : Population NILM \geq 30 ans : risques absolu et relatif de lésions \geq CIN2 et \geq CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV assay et d'un test HPV ADN par groupe d'âge

	Âge	Résultat du test	Aptima HPV Assay N = 937		Test HPV ADN N = 863*	
			Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)	Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)
\geq CIN2	21 à 29 ans		N = 415		N = 389	
		Positif	21,7 (54/249) (19,3, 23,9)	5,1 (2,4, 11,0)	20,8 (56/269) (19,0, 22,5)	8,3 (2,7, 26,1)
		Négatif	4,2 (7/166) (1,9, 7,7)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Prévalence (%)	9,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	30 à 39 ans		N = 261		N = 238	
		Positif	17,3 (17/98) (13,1, 21,1)	9,4 (2,8, 31,3)	16,2 (16/99) (11,8, 19,8)	5,6 (1,9, 16,3)
		Négatif	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Prévalence (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
	\geq 40 ans		N = 261		N = 236	
		Positif	11,8 (6/51) (5,6, 17,7)	6,2 (1,8, 21,1)	13,2 (7/53) (6,9, 18,7)	8,1 (2,2, 30,1)
		Négatif	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)		1,6 (3/183) (0,4, 3,4)	
		Prévalence (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	
\geq CIN3	21 à 29 ans		N = 415		N = 389	
		Positif	10,4 (26/249) (9,0, 11,5)	17,3 (2,4, 127)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Non calculable
		Négatif	0,6 (1/166) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Prévalence (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	30 à 39 ans		N = 261		N = 238	
		Positif	8,2 (8/98) (5,0, 10,1)	13,3 (1,7, 105)	7,1 (7/99) (4,0, 9,2)	4,9 (1,0, 23,2)
		Négatif	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Prévalence (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
	\geq 40 ans		N = 261		N = 236	
		Positif	5,9 (3/51) (1,6, 9,7)	6,2 (1,1, 36,0)	7,5 (4/53) (2,9, 10,7)	13,8 (1,6, 121)
		Négatif	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)		0,5 (1/183) (0,0, 1,8)	
		Prévalence (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

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

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

Au total, 11 644 femmes avec des résultats cytologiques de NILM ont été incluses dans l'étude NILM ; parmi celles-ci, 773 ont été retirées de l'étude. Les 10 871 femmes restantes étaient éligibles pour être testées avec le Panther Système. Onze femmes avaient des échantillons manquants et étaient exclues de l'évaluation initiale de l'Aptima HPV assay sur le Panther System. Les 10 860 femmes évaluables restantes avaient 30 ans et plus et des résultats cytologiques de NILM ainsi que des résultats avec le Aptima HPV assay sur le Panther Système. Sur les 512 femmes dont les résultats étaient positifs avec le Aptima HPV assay sur le Panther Système, 284 ont subi une coloscopie. Sur les 10 348 femmes dont les résultats étaient négatifs avec le Aptima HPV assay, 580 ont subi une coloscopie. Vingt (20) femmes présentaient des lésions ≥ CIN2 et onze (11) des lésions ≥ CIN3 ; 798 femmes présentaient une histologie normale/CIN1 ; 46 femmes avaient un statut pathologique indéterminé. Les résultats du Aptima HPV assay par rapport au diagnostic du panel d'examen histologique consensuel sont indiqués dans le tableau 37.

Tableau 37 : Population NILM ≥ 30 ans : résultats du Aptima HPV assay et d'un test HPV ADN par rapport au diagnostic du panel d'examen histologique consensuel lors de l'évaluation initiale

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

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

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

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

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

Au total, 10 042 femmes présentaient un statut pathologique non vérifié (incluant les statuts indéterminés) (tableau 38). La proportion de femmes avec un statut pathologique non vérifié était élevée dans ce groupe (96,6 %), puisque seules les femmes sélectionnées aléatoirement disposant de résultats négatifs avec le Aptima HPV assay réalisé sur le Tigris DTS System et avec le test DNA HPV disponible dans le commerce étaient orientées vers une coloscopie. Pour corriger ce biais de vérification, une méthode d'imputation multiple a été utilisée pour estimer le nombre de femmes atteintes de lésions qui auraient été identifiées si toutes les femmes avaient subi une coloscopie. Les estimations de performance corrigées pour tenir compte du biais de vérification et les estimations de performance non corrigées basées sur les 818 femmes disposant d'un statut pathologique vérifié sont présentées.

Tableau 38 : Population NLIM ≥ 30 ans : classification des femmes NLIM évaluables d'après les résultats du Aptima HPV assay et du test HPV ADN, le statut pathologique (≥ CIN2 et ≥ CIN3) et le statut de vérification de la maladie

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

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

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

La prévalence corrigée de lésions \geq CIN2 et \geq CIN3 chez les femmes avec des résultats cytologiques NILM était respectivement de 0,9 % et 0,4 %. Les estimations corrigées du risque absolu et relatif pour la détection des lésions \geq CIN2 et \geq CIN3 sont indiquées dans le tableau 39. Le risque relatif corrigé de lésions \geq CIN2 était de 7,5 (IC à 95 % : 2,1 ; 26,3), indiquant qu'une femme avec des résultats positifs avec le Aptima HPV assay a 7,5 fois plus de risques de développer des lésions \geq CIN2 qu'une femme dont les résultats du Aptima HPV assay sont négatifs. Le risque relatif corrigé de lésions \geq CIN3 était de 24,9 (IC à 95 % : 2,0 ; 307,0). Les estimations non corrigées de risque absolu et relatif pour la détection des lésions \geq CIN2 et \geq CIN3 sont indiquées de manière globale dans le tableau 40 et par groupe d'âge dans le tableau 41.

Tableau 39 : Population NLIM \geq 30 ans : risques absolu et relatif de lésions \geq CIN2 et \geq CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV assay et d'un test HPV ADN (estimations corrigées pour tenir compte du biais de vérification) lors de l'évaluation initiale

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

Tableau 40 : Population NLIM \geq 30 ans : risques absolu et relatif de lésions \geq CIN2 et \geq CIN3 d'après les résultats du Aptima HPV assay et d'un test HPV ADN (estimations non corrigées) lors de l'évaluation initiale

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

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

Tableau 41 : Population NLIM ≥ 30 ans : risques absolu et relatif de lésions ≥ CIN2 et ≥ CIN3 d'après les résultats de l'Aptima HPV assay et d'un test DNA HPV par groupe d'âge (estimations non corrigées) lors de l'évaluation initiale

	Âge	Résultat du test	Aptima HPV Assay N = 818		Test DNA HPV N = 800*	
			Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)	Risque absolu (IC à 95 %)	Risque relatif (IC à 95 %)
≥ CIN2	30 à 39 ans		N = 383		N = 376	
		Positif	4,6 (7/153) (2,5, 5,9)	5,3 (1,1, 25,0)	3,3 (7/215) (1,8, 4,1)	2,6 (0,6, 12,4)
		Négatif	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)		1,2 (2/161) (0,2, 3,2)	
		Prévalence (%)	2,3 (9/383)		2,4 (9/376)	
	≥ 40 ans		N = 435		N = 424	
		Positif	6,0 (7/116) (3,2, 8,5)	4,8 (1,4, 16,1)	4,5 (9/201) (2,9, 5,3)	10,0 (1,3, 78,1)
		Négatif	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)		0,4 (1/223) (0,0, 1,8)	
		Prévalence (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
≥ CIN3	30 à 39 ans		N = 383		N = 376	
		Positif	3,3 (5/153) (1,6, 4,1)	7,5 (0,9, 63,7)	2,3 (5/215) (1,1, 2,9)	3,7 (0,4, 31,7)
		Négatif	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)		0,6 (1/161) (0,0, 2,2)	
		Prévalence (%)	1,6 (6/383)		1,6 (6/376)	
	≥ 40 ans		N = 435		N = 424	
		Positif	4,3 (5/116) (2,2, 5,1)	Non calculable	2,5 (5/201) (1,3, 2,8)	Non calculable
		Négatif	0,0 (0/319) (0,0, 0,8)		0,0 (0/223) (0,0, 1,1)	
		Prévalence (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

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

Les estimations corrigées de performance clinique du Aptima HPV assay, incluant la sensibilité, la spécificité, la VPP et la VPN, dans la détection des lésions \geq CIN2 et \geq CIN3 sont indiquées dans le tableau 42 ainsi que les estimations du test HPV ADN disponible dans le commerce. Les estimations non corrigées de performance clinique sont indiquées dans le tableau 43. Le Aptima HPV assay et le test HPV ADN disponible dans le commerce ont montré une sensibilité similaire ; en revanche, la spécificité était nettement plus élevée pour le Aptima HPV assay (les IC à 95 % ne se chevauchent pas). Les estimations du coefficient de prévision du Aptima HPV assay étaient cliniquement pertinentes et similaires aux estimations du test HPV ADN disponible dans le commerce. Les VPN étaient similaires mais pour la détection des lésions \geq CIN2, la VPP pour le Aptima HPV assay était légèrement supérieur à celui du test HPV ADN disponible dans le commerce (4,5 % contre 3,7 %).

Tableau 42 : Population NLIM \geq 30 ans : performances cliniques du Aptima HPV assay et d'un test HPV ADN pour la détection des lésions \geq CIN2 et \geq CIN3 (estimations corrigées pour tenir compte du biais de vérification) lors de l'évaluation initiale

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

Tableau 43 : Population NLIM ≥ 30 ans : performances cliniques du Aptima HPV assay et d'un test HPV ADN pour la détection des lésions ≥CIN2 et ≥CIN3 (estimations non corrigées) lors de l'évaluation initiale

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

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

La comparaison directe entre le Aptima HPV assay sur le Panther System et le test HPV ADN disponible dans le commerce démontre une sensibilité similaire et une amélioration statistiquement significative de la spécificité du Aptima HPV assay par rapport au test HPV ADN disponible dans le commerce dans la détection des lésions \geq CIN2, comme l'indiquent les ratios des taux de vrais positifs et de faux positifs (tableau 44 et tableau 45).

Tableau 44 : Population NILM \geq 30 ans : ratio des taux de vrais positifs (Aptima HPV assay/test HPV ADN) chez les femmes avec des lésions \geq CIN2 (estimations non corrigées) lors de l'évaluation initiale

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

Tableau 45 : Population NILM \geq 30 ans : ratio des taux de vrais positifs (Aptima HPV assay/test DNA HPV) chez les femmes avec des lésions $<$ CIN2 (estimations non corrigées) lors de l'évaluation initiale

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

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

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

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

ces 10 332 femmes, 5 946 (57,5 %) avaient un statut pathologique positif ou négatif sur 3 ans. Sur les 6 201 femmes au statut pathologique sur 3 ans, 47 femmes avaient des lésions \geq CIN2, dont 23 avec des lésions \geq CIN3, 6 154 femmes avaient des résultats normaux/CIN1 d'après le panel d'examen histologique consensuel. Le tableau 46 affiche les résultats initiaux du Aptima HPV assay sur le Panther System et le test HPV ADN disponible dans le commerce, ainsi que le statut de la maladie sur 3 ans (comprenant l'évaluation initiale et de suivi) d'après le panel d'examen histologique consensuel.

Tableau 46 : NILM Population \geq 30 ans : Classification des femmes admissibles à la phase de suivi d'après les résultats de période initiale au Aptima HPV assay, les résultats de période initiale au test HPV DNA, et le statut de la maladie (\geq CIN2, \geq CIN3, Non vérifié) déterminé lors des phases initiales et de suivi

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

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

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

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

Les estimations des risques absolu et relatif cumulatifs sur trois ans pour la détection des \geq CIN2 et \geq CIN3 sont présentées dans le Tableau 47.

Tableau 47 : NILM Population ≥ 30 ans : risques absolu et relatif cumulatifs sur 3 ans* de ≥CIN2 et ≥CIN3 pour les résultats du Aptima HPV assay et du test HPV ADN lors de l'évaluation initiale

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

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

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

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

Des échantillons cytologiques en milieu liquide SurePath ont été recueillis auprès de femmes canadiennes (n = 558) lors d'une consultation de suivi en raison d'un ou plusieurs frottis anormaux, d'une infection HPV ou d'autres raisons. Un aliquote (0,5 ml) de chaque échantillon a été transféré dans un tube de transfert d'échantillons Aptima puis a été traité par de la solution de transfert Aptima. Un seul réplicat de chaque échantillon a été testé avec le Aptima HPV assay. Un aliquote distinct (1 ml) de chaque échantillon a été prélevé pour être évalué avec un test PCR HPV disponible dans le commerce. La sensibilité clinique de détection de la maladie, définie par un résultat histologique \geq CIN3, a été calculée pour le Aptima HPV assay et pour le test PCR HPV, comme indiqué dans le tableau 48, avec les coefficients de prévision positif et négatif.

Tableau 48 : Performances du Aptima HPV assay et d'un test PCR HPV pour la détection de lésions \geq CIN3

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

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

Des échantillons cliniques positifs pour HPV à haut risque et négatifs pour HPV à haut risque prélevés avec le kit CSCT Aptima dans des populations testées dans le cadre du dépistage (consultation de routine) et d'une orientation (consultation pour colposcopie) ont été testés avec le Aptima HPV assay sur le Panther Système et le Tigris DTS System en utilisant deux lots de réactifs. La concordance entre le Panther Système et le Tigris DTS System pour les échantillons prélevés avec le kit CSCT est indiquée dans le tableau 49.

Pour les échantillons prélevés avec le kit CSCT, la concordance globale entre le Panther Système et le Tigris DTS System était > 98 %, comme indiqué dans le tableau 49. Parmi les 632 échantillons cliniques analysés, 69 étaient des lésions \geq CIN2 et 38 étaient des lésions \geq CIN3. La sensibilité du Aptima HPV assay pour la détection des lésions \geq CIN2 était de 97,1 % (IC à 95 % : 90,0 % , 99,2 %) avec le Panther Système et de 98,6 % (IC à 95 % : 92,2 % , 99,7 %) avec le Tigris DTS System. La sensibilité du test pour la détection des lésions \geq CIN3 était de 100 % (IC : 90,8 % , 100 %) aussi bien avec le Panther Système qu'avec le Tigris DTS System.

Tableau 49 : Concordance des résultats du Aptima HPV assay obtenus avec des échantillons prélevés avec le kit CSCT Aptima analysés sur le Tigris DTS System et le Panther Système

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

Concordance globale = 98,1 % (IC 96,7 , 98,9)
 Concordance positive = 98,2 % (IC 96,6 , 99,0)
 Concordance négative = 97,7 % (IC 93,6 , 99,2)

Sensibilité analytique

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

Les résultats de l'analyse Probit dans le tableau 50 indiquent que les types 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59 et 68 de HPV avaient des seuils de détection de 95 % inférieurs à 100 copies/réaction et que les types 52, 58 et 66 avaient des seuils de détection de 95 % entre 100 et 500 copies/réaction. Les seuils de détection de 95 % des quatre lignées cellulaires testées étaient inférieurs à 1 cellule/réaction.

Tableau 50 : Seuil de détection du seuil clinique pour le Aptima HPV assay

Cible	Seuil de détection* (IC à 95 %)
HPV 16	49,4 (37,1-73,0)
HPV 18	44,0 (34,4-62,1)
HPV 31	32,5 (23,2-52,1)
HPV 33	67,5 (48,8-106,2)
HPV 35	32,7 (23,6-51,4)
HPV 39	20,9 (16,3-29,5)
HPV 45	37,1 (27,9-54,7)
HPV 51	51,1 (36,3-83,9)
HPV 52	410,2 (310,7-595,1)
HPV 56	59,4 (46,7-81,5)
HPV 58	124,1 (90,7-190,1)
HPV 59	81,1 (61,9-116,6)
HPV 66	118,5 (83,2-202,0)
HPV 68	22,4 (17,1-32,4)
SiHa	0,25 (0,19-0,36)
HeLa	0,11 (0,09-0,14)
ME180	0,10 (0,08-0,16)
MS751	0,17 (0,14-0,25)

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

Précision du test

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

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

Les échantillons du panel sont décrits dans le tableau 51a (échantillons du panel avec résultats positifs prévus) et le tableau 51b (échantillons du panel avec résultats négatifs prévus), avec un résumé de la concordance avec les résultats prévus et les valeurs de S/CO d'analyte aux 2,5e, 50e et 97,5e percentiles de la distribution du S/CO. La variabilité du S/CO d'analyte pour les échantillons du panel avec des résultats positifs prévus est indiquée dans le tableau 52 pour l'étude 1 et le tableau 53 pour l'étude 2.

Tableau 51a : Études 1 et 2 de précision du Aptima HPV assay : description du panel, concordance positive et distribution des percentiles des valeurs du S/CO d'analyte pour les échantillons du panel avec des résultats positifs prévus

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

IVT = transcrit in vitro

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

Tableau 51b : Études 1 et 2 de précision du Aptima HPV assay : description du panel, concordance négative et distribution des percentiles des valeurs du S/CO d'analyte pour les échantillons du panel avec des résultats négatifs prévus

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

IVT = transcrit in vitro.

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

Tableau 52 : Étude 1 de précision du Aptima HPV assay : variabilité du signal pour les échantillons du panel avec résultats positifs prévus

Description du panel (copies ou cellules/réaction)	n	S/CO moyen	Inter-appareil		Inter- opérateur		Inter-lot		Inter-liste de travail		Intra-liste de travail		Total	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Échantillon clinique 1 fortement positif au HPV	107*	29,34	0,00	0,0	0,00	0,0	1,43	4,9	1,87	6,4	1,49	5,1	2,79	9,5
Échantillon clinique 2 fortement positif au HPV	107*	30,09	0,55	1,8	0,00	0,0	1,06	3,5	0,73	2,4	2,21	7,3	2,61	8,7
IVT de HPV 16 (1830 copies)	107*	11,20	0,09	0,8	0,16	1,4	0,03	0,3	0,14	1,3	0,46	4,1	0,52	4,6
IVT de HPV 18 (1550 copies)	107*	14,89	0,18	1,2	0,00	0,0	0,20	1,3	0,14	0,9	1,53	10,3	1,56	10,5
Échantillon clinique 1 faiblement positif au HPV	107*	8,24	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,23	39,2	3,23	39,2
Échantillon clinique 2 faiblement positif au HPV	108	7,07	0,00	0,0	0,41	5,8	0,00	0,0	0,00	0,0	4,57	64,7	4,59	65,0
Échantillon clinique 3 faiblement positif au HPV	108	10,23	0,26	2,5	0,00	0,0	0,00	0,0	1,32	12,9	3,23	31,6	3,49	34,2
Échantillon clinique 4 faiblement positif au HPV	108	4,68	0,50	10,7	0,20	4,2	0,00	0,0	0,99	21,1	3,02	64,6	3,22	68,9
IVT de HPV 16 (183 copies)	102*	11,09	0,08	0,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	2,3	0,54	4,9	0,61	5,5
IVT de HPV 18 (155 copies)	108	11,78	0,00	0,0	0,43	3,7	0,00	0,0	1,12	9,5	1,97	16,7	2,30	19,6
Cellules MS751 (0,63 cellule)	108	10,73	0,00	0,0	0,59	5,5	0,72	6,7	0,82	7,6	1,86	17,3	2,23	20,8
Cellules HeLa (0,35 cellule)	108	6,78	0,00	0,0	0,56	8,3	0,00	0,0	1,23	18,2	3,08	45,5	3,37	49,7
Cellules SiHa (0,90 cellule)	107*	7,74	0,37	4,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,85	49,8	3,87	50,1

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

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

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

Tableau 53 : Étude 2 de précision du Aptima HPV assay : variabilité du signal pour les échantillons du panel avec résultats positifs prévus

Description du panel (copies ou cellules/réaction)	n	S/CO moyen	Inter-appareil		Inter- opérateur		Inter-lot		Inter-liste de travail		Intra-liste de travail		Total	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Échantillon clinique 1 fortement positif au HPV	161*	26,81	0,75	2,8	0,00	0,0	0,91	3,4	0,48	1,8	1,84	6,9	2,24	8,3
Échantillon clinique 2 fortement positif au HPV	162	28,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,96	3,3	0,65	2,3	2,35	8,2	2,62	9,1
IVT de HPV 16 (1830 copies)	161*	11,07	0,14	1,2	0,00	0,0	0,05	0,5	0,16	1,4	0,32	2,9	0,39	3,5
IVT de HPV 18 (1550 copies)	162	13,34	0,14	1,1	0,12	0,9	1,00	7,5	0,31	2,3	0,75	5,6	1,31	9,8
Échantillon clinique 1 faiblement positif au HPV	162	7,57	0,56	7,5	0,55	7,3	0,63	8,3	0,00	0,0	3,61	47,7	3,75	49,5
Échantillon clinique 2 faiblement positif au HPV	162	7,59	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	5,25	69,2	5,25	69,2
Échantillon clinique 3 faiblement positif au HPV	161*	8,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	3,0	0,00	0,0	3,48	39,4	3,49	39,5
Échantillon clinique 4 faiblement positif au HPV	162	4,95	0,00	0,0	0,00	0,0	0,75	15,2	0,00	0,0	3,35	67,6	3,43	69,3
IVT de HPV 16 (183 copies)	162	11,02	0,13	1,2	0,11	1,0	0,12	1,1	0,13	1,2	0,54	4,9	0,59	5,4
IVT de HPV 18 (155 copies)	159*	11,40	0,16	1,4	0,17	1,5	1,21	10,6	0,23	2,0	1,17	10,3	1,72	15,0
Cellules MS751 (0,63 cellule)	162	9,87	0,76	7,7	0,00	0,0	0,65	6,6	0,65	6,6	1,41	14,3	1,85	18,7
Cellules HeLa (0,35 cellule)	162	7,80	0,55	7,0	0,00	0,0	0,85	10,9	0,00	0,0	2,44	31,3	2,65	33,9
Cellules SiHa (0,90 cellule)	162	7,30	0,32	4,3	0,00	0,0	0,93	12,7	1,04	14,3	3,49	47,8	3,77	51,7

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

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

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

Réactivité croisée

Les tests avec des organismes présentant une éventuelle réactivité croisée avec le Aptima HPV assay ont été menés au moyen du Tigris DTS System. Consultez *Réactivité croisée* (tableau 28) dans la section Tigris DTS System pour visualiser les résultats.

Interférence

Les tests de substances potentiellement interférentes avec le Aptima HPV assay ont été menés au moyen du Tigris DTS System. Consultez *Interférence* (tableau 29) dans la section Tigris DTS System pour visualiser les résultats.

Bibliographie

1. **Walboomers, J. M., M.V. Jacobs, M.M. Manos, F.X. Bosch, J.A. Kummer, K.V. Shah, P.J. Snijders, J. Peto, C. J. Meijer, N. Muñoz.** 1999. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* **189**:12-19.
2. **Li N., S. Franceschi, R. Howell-Jones, P. J. Snijders, G. M. Clifford.** 2010. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer*, n/a. doi: 10.1002/ijc.25396.
3. **Czegledy J., C. Losif, B.G. Hansson, M. Evander, L. Gergely, and G. Wadell.** 1995. Can a test for E6/E7 transcripts of human papillomavirus type 16 serve as a diagnostic tool for the detection of micrometastasis in cervical cancer? *Int J Cancer.* **64(3)**:211-5.
4. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond).* **110(5)**:525-41.
5. **Burd, E.M.** 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev.* **16(1)**:1-17.
6. **Lambert P.F., H. Pan, H.C. Pitot, A. Liem, M. Jackson, and A.E. Griep.** 1993. Epidermal cancer associated with expression of human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncogenes in the skin of transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **90(12)**:5583-7.
7. **Kjaer S.K., A.J.C. van den Brule, G., Paull, E.I. Svare, M.E. Sherman, B.L. Thomsen, M. Suntum, J.E. Bock, P.A. Poll, and C.J.L.M. Meijer.** 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ.* **325(7364)**: 572-579.
8. **Monsonogo J., F.X. Bosch, P. Coursaget, J.T. Cox, E. Franco, I. Frazer, R. Sankaranarayanan, J. Schiller, A. Singer, T.C. Wright Jr, W. Kinney, C.J. Meijer, J. Linder, E. McGoogan, and C. Meijer.** 2004. Cervical cancer control, priorities and new directions. *Int J Cancer.* **108(3)**:329-33. Erratum in: *Int J Cancer.* **108(6)**:945.
9. **Cuschieri, K.S., M.J. Whitley, H.A. Cubie.** 2004. Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence—implications for cervical disease progression and monitoring. *J. Med. Virol.* **73(1)**: 65-70.
10. **Baseman J.G., and L.A. Koutsky.** 2005. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol.* **32 Suppl 1**:S16-24.
11. **Wu R, Belinson SE, Du H, Na W, Qu X, Wu R, et al.** Human papillomavirus messenger RNA assay for cervical cancer screening: the Shenzhen Cervical Cancer Screening Trial I. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society.* 2010; **20(8)**:1411-4.
12. **Ratnam S, Coutlee F, Fontaine D, Bentley J, Escott N, Ghatage P, et al.** Aptima HPV E6/E7 mRNA test is as sensitive as Hybrid Capture 2 Assay but more specific at detecting cervical precancer and cancer. *Journal of Clinical Microbiology.* 2011; **49(2)**:557-64.
13. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Halfon P, et al.** Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid-based cytology in primary cervical cancer screening: the FASE study. *International Journal of Cancer Journal international du cancer.* 2011;**129**:691-701.
14. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Smith JS.** Risk assessment and clinical impact of liquid-based cytology, oncogenic human papillomavirus (HPV) DNA and mRNA testing in primary cervical cancer screening (the FASE study). *Gynecologic Oncology.* 2012;**125**:175-80.
15. **Nieves L, Enerson CL, Belinson S, Brainard J, Chiesa-Vottero A, Nagore N, et al.** Primary cervical cancer screening and triage using an mRNA human papillomavirus assay and visual inspection. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society.* 2013;**23(3)**:513-8.
16. **Cuzick J, Cadman L, Mesher D, Austin J, Ashdown-Barr L, Ho L, et al.** Comparing the performance of six human papillomavirus tests in a screening population. *British Journal of Cancer.* 2013;**108**:908-13.
17. **Rebolj M, Preisler S, Ejegod DM, Bonde J, Rygaard C, Lyng E.** Prevalence of human papillomavirus infection in unselected SurePath samples using the APTIMA HPV mRNA assay. *The Journal of Molecular Diagnostics.* 2013;**15(5)**:670-7.
18. **Rebolj M, Bonde J, Ejegod D, Preisler S, Rygaard C, Lyng E.** A daunting challenge: human papillomavirus assays and cytology in primary cervical screening of women below age 30 years. *European Journal of Cancer.* 2015;**51**:1456-66.
19. **Heideman DAM, Hesselink AT, van Kemenade FJ, Iftner T, Berkhof J, Topal F, et al.** The Aptima HPV assay fulfills the cross-sectional clinical and reproducibility criteria of international guidelines for human papillomavirus test requirements for cervical screening. *Journal of Clinical Microbiology.* 2013;**51(11)**:3653-7.
20. **Pyne MT, Hamula CL, Tardif K, Law C, Schlaberg R.** High-risk HPV detection and genotyping by APTIMA HPV using cervical samples. *Journal of Virological Methods.* 2015;**221**:95-9.
21. **Iftner T, Becker S, Neis KJ, Castanon A, Iftner A, Holz B, et al.** Head-to-Head Comparison of the RNA368 Based Aptima Human Papillomavirus (HPV) Assay and the DNA-Based Hybrid Capture 2 HPV Test in a Routine Screening Population of Women Aged 30 to 60 Years in Germany. *Journal of Clinical Microbiology.* 2015;**53**:2509-16.
22. **Rebolj M, Bonde J, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Lyng E.** Human Papillomavirus Assays and Cytology in Primary Cervical Screening of Women Aged 30 Years and Above. *PLoS One.* 2016 Jan 20;**11(1)**:e0147326.
23. **Rebolj M, Bonde J, Ejegod D, Preisler S, Rygaard C, Lyng E.** A daunting challenge: Human Papillomavirus assays and cytology in primary cervical screening of women below age 30years. *Eur J Cancer.* 2015 Jul;**51(11)**:1456-66.
24. **Kacian, D.L. and T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
25. **Arnold, L. J., P. W. Hammond, W. A. Wiese, and N. C. Nelson.** 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. *Clin Chem.* **35**: 1588-1594.
26. **Nelson, N. C., A. BenCheikh, E. Matsuda, and M. Becker.** 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. *Biochem.* **35**:8429-8438.

27. **Clad, A., M. Reuschenbach, J. Weischenk, R. Grote, J. Rahmsdorf, and N. Freudenberg.** Performance of the Aptima high-risk HPV mRNA assay in a referral population in comparison with Hybrid Capture 2 and cytology. 2010. *J Clin Microbiol*, n/a. doi: 10.1128/JCM.01674-10.
28. **Ratnam S., F. Coutless, D. Fontaine, J. Bentley, N. Escott, P. Ghatage, G. Holloway, E. Bartellas, N. Kum, and A. Lear.** 2008. Clinical Correlations of Aptima HPV E6/E7 mRNA Test in Cervical Cancer Screening: Preliminary Results from a Multicentre Canadian Study. Presented at EUROGIN 2008, November 12-15, 2008, Scientific Communication SS **8-6**.
29. **Szarewski A., L. Ambroisine, L. Cadman, J. Austin, L. Ho, G. Terry, S. Little, R. Dina, J. McCarthy, H. Buckley, C. Bergeron, P. Soutter, D. Lyons, and J. Cuzick.** 2008. Comparison of predictors for High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia in Women with Abnormal Smears. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* **17(11)**, November.
30. **Castle P.E., J. Dockter, C. Giachetti, F.A.R. Garcia, M. McCormick, A.L. Mitchell, E.B. Holladay, and D.P. Kolk.** 2007. A Cross-sectional Study of a Prototype Carcinogenic Human Papillomavirus E6/E7 Messenger RNA Assay for Detection of Cervical Pre-cancer and Cancer. *Clin Cancer Res.* **13(9)**. 2599.
31. **Monsonogo J., M.G. Hudgens, L. Zerat, J.C. Zerat, K. Syrjänen, P. Halfon, F. Ruiz, and J.S. Smith.** 2010. Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid based cytology in primary cervical cancer screening (The FASE study). *Int J Cancer.* n/a. doi 10.1002/ijc.25726.
32. **Datta, S. D., L. A. Koutsky, S. Ratelle, E. R. Unger, J. Shlay, T. McClain, B. Weaver, P. Kerndt, J. Zenilman, M. Hagensee, C. J. Suhr, and H. Weinstock.** 2008. Human Papillomavirus Infection and Cervical Cytology in Women Screened for Cervical Cancer in the United States, 2003–2005. *Annals Int Med.* **148**:493.
33. **Clifford, G.M., S. Gallus, R. Herrero, N. Muñoz, P. J. F. Snijders, S. Vaccarella, P. T. H. Anh, C. Ferreccio, N. T. Hieu, E. Matos, M. Molano, R. Rajkumar, G. Ronco, S. de Sanjosé, H. R. Shin, S. Sukvirach, J. O. Thomas, S. Tunsakul, C. J. L. M. Meijer, S. Franceschi, and the IARC HPV Prevalence Surveys Study Group.** Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled Analysis. 2005. *The Lancet.* **366**, 991.
34. **Stoler, M.H., T.C. Wright, Jr., J. Cuzick, J. Dockter, J. Reid, D. Getman, C. Giachetti.** 2013. Aptima HPV assay performance in women with atypical squamous cells of undetermined significance cytology results. *American Journal of Obstetrics & Gynecology.* **208(2)**:144-145.
35. **Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, and Solomon D.** 2006 Consensus Guidelines for the Management of Women with Abnormal Cervical Cancer Screening Tests. 2007. *Am J Obstet Gynecol* **197** (4); 346-355.
36. **Pretorius R.G., W. H. Zhang, J. L. Belinson, et al.** Colposcopically directed biopsy, random cervical biopsy, and endocervical curettage in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia II or worse. 2004. *Am J Obstet Gynecol.* **191**:430-434.
37. **Pretorius R.G., R. J. Kim, J. L. Belinson, P. Elson, Y-L Qiao.** Inflation of sensitivity of cervical cancer screening tests secondary to correlated error in colposcopy. 2006. *J Low Genit Tract Dis.* **10(1)**:5-9.



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

Service clients : +1 800-442-9892
customersupport@hologic.com

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



Hologic N.V.
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

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

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

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

RAININ est une marque commerciale de Rainin Instruments, LLC.

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

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

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

Ce produit peut faire l'objet d'un ou plusieurs brevets américains décrits à l'adresse www.hologic.com/patents.

© 2007-2018 Hologic, Inc. Tous droits réservés.
AW-14517-901 Rev. 005

2018-03