

Aptima™ HPV 16 18/45 Genotip Testi (Panther™Sistemi)

Kullanım Talimatları
İn vitro diagnostik kullanım için
Sadece ABD İhracatı İçin

Genel Bilgi	2
Amaçlanan kullanım.....	2
Testin Özeti ve Açıklaması.....	2
Prosedür İlkeleri.....	3
Güvenlik ve Performans Özeti.....	3
Uyarılar ve Önlemler.....	4
Reaktif Depolama ve Elleçleme Gereklilikleri.....	5
Numune Toplama ve Saklama	6
Panther Sistemi	8
Sağlanan Reaktifler ve Malzemeler	8
Malzemeler Gerekli Ancak Ayrı Olarak Temin Edilebilir.....	10
Panther Sistem Test Prosedürü.....	11
Prosedür Notları.....	13
Kalite Kontrol Prosedürleri	14
Test Yorumlama	16
Sınırlamalar	17
Panther Sistemi Beklenen Sonuçlar: Yüksek Riskli HPV mRNA Prevalansı	18
Panther Sistemi Test Performansı	19
Kaynakça	49
İletişim Bilgileri ve Revizyon Geçmişi	50



Aptima HPV 16 18/45 Genotip Testi

1

AW-22203-001 Rev. 001

İşbu belgenin tarafımdan İngilizce
aslından Türkçe'ye tercüme
edildiğini teyit ederim.

Yeminli Mütercim

Genel Bilgi

Amaçlanan kullanım

Aptima HPV testi, 14 yüksek riskli insan papilloma virüsü (HPV) tipinden (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68) E6/E7 viral mesajcı RNA'nın (mRNA) in vitro kalitatif tespiti için bir hedef amplifikasyon nükleik asit prob testidir. Aptima HPV testi 14 yüksek riskli tip arasında ayırım yapmaz.

- Aptima HPV testi, kolposkopiye sevk ihtiyacını belirlemek için ASC-US (önemi belirlenmemiş atipik skuamöz hücreler) Pap test sonuçları olan hastaların taranmasında kullanım için tasarlanmıştır. Bu testin sonuçları kadınların kolposkopiye gitmesini önlemeye yönelik değildir.
- Aptima HPV testi, yüksek riskli HPV tiplerinin varlığını veya yokluğunu değerlendirmek üzere servikal sitoloji ile birlikte ek tarama (birlikte test) için kullanılabilir. Bu bilgi, doktorun sitoloji geçmişi, diğer risk faktörleri ve profesyonel kılavuzlar hakkındaki değerlendirmesiyle birlikte hasta yönetimini yönlendirmek için kullanılabilir.
- Aptima HPV testi, serviks kanseri gelişimi veya yüksek dereceli hastalık varlığı açısından yüksek risk altındaki kadınları belirlemek için servikal sitoloji ile birlikte veya tek başına birinci basamak birincil tarama testi olarak kullanılabilir. Bu bilgi, doktorun hastanın tarama geçmişi, diğer risk faktörleri ve profesyonel kılavuzlara ilişkin değerlendirmesiyle birlikte hasta yönetimini yönlendirmek için kullanılabilir.

Aptima HPV testi Panther sisteminde aşağıdaki numune türlerini test etmek için kullanılabilir: Pap işlemi öncesi veya sonrası PreservCyt™ solüsyonu içeren ThinPrep™ Pap Test şişelerinde toplanan servikal numuneler, Aptima Servikal Numune Toplama ve Taşıma Kiti ile toplanan servikal numuneler veya SurePath Koruyucu Sıvı içinde toplanan servikal numuneler.

Testin Özeti ve Açıklaması

Serviks kanseri dünyada en sık görülen kadın kanserlerinden biridir. HPV, tüm servikal kanserlerin %99'undan fazlasından sorumlu etiyolojik ajandır.^{1,2,3} HPV, 100'den fazla genotipten oluşan, cinsel yolla bulaşan yaygın bir DNA virüsüdür.⁴

HPV viral genomu yaklaşık 7900 baz çifti uzunluğunda çift sarmallı dairesel bir DNA'dır. Genomun üst üste binen sekiz açık okuma çerçevesi vardır. Altı erken (E) gen, iki geç (L) gen ve bir çevrilmemiş uzun kontrol bölgesi vardır. L1 ve L2 genleri majör ve minör kapsid proteinlerini kodlar. Erken genler HPV viral replikasyonunu düzenler. Yüksek riskli HPV genotiplerinden E6 ve E7 genleri bilinen onkogenlerdir. E6/E7 polikistronik mRNA'dan eksprese edilen proteinler hücre p53 ve retinoblastoma protein fonksiyonlarını değiştirerek hücre döngüsü kontrol noktalarının bozulmasına ve hücre genomu instabilitesine yol açar.^{4,4}

On dört HPV genotipi servikal hastalık için patojenik veya yüksek riskli olarak kabul edilir.⁵ Çok sayıda çalışma 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 ve 68 genotiplerini hastalığın ilerlemesiyle ilişkilendirmiştir.^{2,6,7} Bu tiplerden biriyle kalıcı enfeksiyonu olan kadınlarda şiddetli displazi veya servikal karsinom gelişme riski artmıştır.^{5,8}

HPV enfeksiyonları çok yaygındır ve çoğu kadın HPV enfeksiyonlarını 6 ila 12 ay içinde temizleyecektir.^{2,9} HPV nükleik asidinin varlığı servikal displazi veya servikal kanserin mevcut olduğu anlamına gelmez. Bununla birlikte, servikal hastalığın tespiti için etkili bir yaklaşım, HPV'nin kalıcı viral enfeksiyonu ve hücresel dönüşümü teşvik eden onkojenik unsurlarını hedef almaktır.¹⁰



İşbu belgenin tarafımdan imzalı olarak aslındaki belgeye tercüme edildiğini teyit ederim.
Yeminli Mütercim *Sinau Ceylan*

Aptima HPV Testi Serviks Kanseri için Birincil Taramada Klinik Performans

Aptima HPV tahlilinin birincil tarama yönteminde kullanıldığında klinik performansı bağımsız araştırmacılar tarafından çok sayıda çalışmada araştırılmıştır. 15 ayrı klinik çalışmadan elde edilen en az 25 hakemli yayınlı 1-35 Aptima HPV'nin on bir ülkede (Çin, Kanada, Fransa, Meksika, İngiltere, Danimarka, Hollanda, Amerika Birleşik Devletleri, Almanya, İsveç ve Tayland) kayıtlı kadınlarda birincil taramadaki performansını rapor etmektedir. Bu çalışmalardan elde edilen veriler, Aptima HPV'nin servikal kanser öncesi ve kanser için birincil tarama için kullanıldığında klinik olarak doğrulanmış diğer HPV testlerine kıyasla benzer klinik performansa sahip olduğunu göstermektedir.

Prosedür İlkeleri

Aptima HPV testi tek bir tüpte gerçekleşen üç ana adımdan oluşur: hedef yakalama, Transkripsiyon Aracılı Amplifikasyon (TMA) ile hedef amplifikasyonu,42 ve Hibridizasyon Koruma Testi (HPA) ile amplifikasyon ürünlerinin (amplikon) tespiti.43 Test, nükleik asit yakalama, amplifikasyon ve tespitin yanı sıra operatör veya cihaz hatasını izlemek için bir Dahili Kontrol (IC) içerir.

Numuneler, hücreleri lize eden, mRNA'yı serbest bırakan ve saklama sırasında bozulmaya karşı koruyan numune taşıma ortamı (STM) içeren bir tüpte toplanır veya bu tüpe aktarılır. Aptima HPV tahlili yapıldığında, hedef mRNA manyetik mikropartiküllere bağlı yakalama oligomerleri kullanılarak numuneden izole edilir. Yakalama oligomerleri, HPV mRNA hedef moleküllerinin belirli bölgelerine tamamlayıcı dizilerin yanı sıra bir dizi deoksiadenozin kalıntısı içerir. Hibridizasyon adımı sırasında, yakalama oligomerlerinin sekansa özgü bölgeleri HPV mRNA hedef molekülünün spesifik bölgelerine bağlanır. Yakalama oligomeri:hedef kompleksi daha sonra reaksiyonun sıcaklığını oda sıcaklığına düşürerek çözeltiden yakalanır. Bu sıcaklık düşüşü, yakalama oligomeri üzerindeki deoksiadenozin bölgesi ile manyetik partiküllere kovalent olarak bağlı poli-deoksitimidin molekülleri arasında hibridizasyonun gerçekleşmesini sağlar. Yakalanan HPV mRNA hedef moleküllerinin bağlı olduğu mikropartiküller miknatıslar kullanılarak reaksiyon tüpünün kenarına çekilir ve süpernatant aspire edilir. Partiküller, amplifikasyon inhibitörleri içerebilecek kalıntı numune matrisini uzaklaştırmak için yıkanır.

Hedef yakalama tamamlandıktan sonra HPV mRNA, iki enzim, MMLV ters transkriptaz ve T7 RNA polimeraz kullanan transkripsiyon tabanlı bir nükleik asit amplifikasyon yöntemi olan TMA kullanılarak amplifiye edilir. Ters transkriptaz, T7 RNA polimeraz için bir promotör dizisi içeren hedef mRNA dizisinin bir DNA kopyasını oluşturmak için kullanılır. T7 RNA polimeraz, DNA kopya şablonundan birden fazla RNA amplikon kopyası üretir.

Amplikonun tespiti, amplikona tamamlayıcı olan kemilüminesan etiketli tek sarmallı nükleik asit problemleri kullanılarak HPA ile gerçekleştirilir. Etiketli nükleik asit problemleri spesifik olarak amplikona hibridize olur. Seçim Reaktif, hibridize edilmemiş problemler üzerindeki etiketi inaktive ederek hibridize edilmiş ve edilmemiş problemler arasında ayırım yapar.

Tespit adımı sırasında, etiketli RNA:DNA hibridlerinden yayılan ışık, bir lüminometrede Bağlı Işık Birimi (RLU) adı verilen foton sinyalleri olarak ölçülür. Nihai tahlil sonuçları analit sinyal-kesme (S/CO) değerine göre yorumlanır.

IC, Hedef Yakalama Reaktif aracılığıyla her reaksiyona eklenir. IC, tahlilin hedef yakalama, amplifikasyon ve tespit adımlarını izler. Her bir reaksiyondaki IC sinyali, farklı etiketlere sahip problemlerden gelen ışık emisyonunun farklı kinetiği ile HPV sinyalinden ayrılır.44 IC'ye özgü amplikon, hızlı ışık emisyonuna sahip bir prob (flaşör) kullanılarak tespit edilir. HPV'ye özgü amplikon, nispeten daha yavaş ışık emisyon kinetiğine sahip problemler kullanılarak tespit edilir (glower). İkili Kinetik Test (DKA), flasher ve glower etiketlerinden gelen sinyaller arasında ayırım yapmak için kullanılan bir yöntemdir.44



İşbu belgenin tarafımdan İngilizce
aslından ...'ye tercüme
edildiğini teyit ederim.
Yeminli Mütercim *Sina Ceylan*

Güvenlik ve Performans Özeti

SSP (Güvenlik ve Performans Özeti), cihaz tanımlayıcılarıyla (Temel UDI-DI) bağlantılı olduğu Avrupa tıbbi cihazlar veri tabanında (Eudamed) mevcuttur. Aptima HPV'nin SSP'sini bulmak için Temel Benzersiz Cihaz Tanımlayıcısına (BUDI) bakın: **54200455DIAGAPTHPVBR**.

Uyarılar ve Önlemler

- İn vitro diagnostik kullanım için.
- Profesyonel kullanım için.
- Ek özel uyarılar ve önlemler için Panther/Panther Fusion Sistemi Operatör Kılavuzlarına bakın.

Laboratuvar ile İlgili

- Yalnızca tedarik edilen veya belirtilen tek kullanımlık laboratuvar gereçlerini kullanın.
- Rutin laboratuvar önlemlerini kullanın. Belirlenmiş çalışma alanlarında bir şey yemeyin, içmeyin veya sigara içmeyin. Numuneleri ve kit reaktiflerini tutarken tek kullanımlık, pudrasız eldivenler, koruyucu gözlükler ve laboratuvar önlükleri giyin. Numuneler ve kit reaktiflerini tuttuktan sonra ellerinizi iyice yıkayın.
- Uyarı: Tahriş Edici ve Aşındırıcı:** Auto Detect 2'nin cilt, göz ve mukoza ile temasından kaçının. Bu sıvı cilt veya gözlerle temas ederse, etkilenen bölgeyi suyla yıkayın. Bu sıvı dökülürse, silmeden önce döküntüyü suyla seyreltin.
- Çalışma yüzeyleri, pipetler ve diğer ekipmanlar düzenli olarak %2,5 ila %3,5 (0,35 M ila 0,5 M) sodyum hipoklorit çözeltisi ile dekontamine edilmelidir. Daha fazla bilgi için Panther Sistemi Test Prosedürüne bakın.

Numune ile ilgili

- Numunenin bütünlüğünü sağlamak için numune nakliyesi ve depolanması sırasında uygun sıcaklık koşullarını koruyun. Numune stabilitesi, önerilenler dışındaki nakliye ve saklama koşulları altında değerlendirilmemiştir.
- Numune toplama/transfer kitleri ve tüpleri üzerinde belirtilen son kullanma tarihleri test tesisi ile değil toplama/transfer yeri ile ilgilidir. Bu son kullanma tarihlerinden önce herhangi bir zamanda toplanan/transfer edilen numuneler, bu son kullanma tarihleri geçmiş olsa bile, uygun prospektüse uygun olarak taşınmış ve saklanmış olmaları koşuluyla test için geçerlidir.
- Numuneler bulaşıcı olabilir. Bu tahlili gerçekleştirirken Evrensel Önlemleri kullanın. Uygun kullanım ve imha yöntemleri laboratuvar yöneticisi tarafından belirlenmelidir. Yalnızca bulaşıcı materyallerin taşınması konusunda yeterli eğitim almış personelin bu prosedürü uygulamasına izin verilmelidir.




İşbu belgenin tarafımdan İngilizce
aslında...ye tercüme
edildiğini teyit ederim.
Yeminli Mütercim *Sihem Çet*

- K. Numune taşıma adımları sırasında çapraz kontaminasyondan kaçının. Numune kaplarının birbirine temas etmediğinden emin olun ve kullanılmış malzemeleri açık kapların üzerinden geçirmeden atın. Eldivenler numune ile temas ederse değiştirin.
- L. Delindiğinde, belirli koşullar altında tüp kapaklarından sıvı boşalabilir. Daha fazla bilgi için *Panther Sistem Test Prosedürüne* bakın.
- M. ThinPrep sıvı sitoloji ve Servikal Numune Toplama ve Taşıma (CSCT) numuneleri, numune tüpünde bir toplama cihazı bırakılmışsa reddedilmelidir.
- N. SurePath sıvı sitoloji numuneleri, flakonda bir toplama cihazı yoksa reddedilmelidir.

Test ile ilgili

- O. Reaktifleri belirtilen sıcaklıklarda saklayın. Testin performansı, uygun olmayan şekilde saklanan reaktiflerin kullanımından etkilenebilir.
- P. Reaktiflerin mikrobiyal ve ribonükleaz kontaminasyonunu önleyin.
- Q. Kiti son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
- R. Farklı lot numaralarına sahip kitlerdeki tahlil reaktiflerini veya Kalibratörleri değiştirmeyin, karıştırmayın veya birleştirmeyin.
- S. Aptima Assay Fluids ve Aptima Auto Detect Reaktifleri Ana Lotun bir parçası değildir; herhangi bir lot kullanılabilir.
- T. Doğru tahlil sonuçları elde etmek için tahlil reaktiflerinin iyice karıştırılması gerekir.
- U. Hidrofobik tapalı uçlar kullanılmalıdır.
- V. Bu kitin bazı reaktifleri risk ve güvenlik sembolleri ile etiketlenmiştir.

Not: Tehlike iletişimi AB Güvenlik Bilgi Formları (SDS) sınıflandırmalarını yansıtmaktadır. Bölgenize özgü tehlike iletişimi bilgileri için www.hologicsds.com adresindeki Güvenlik Bilgi Formu Kütüphanesinde bulunan bölgeye özgü GBF'ye bakın. Semboller hakkında daha fazla bilgi için <https://www.hologic.com/package-inserts> adresindeki sembol açıklamasına bakın..

AB Tehlike Bilgileri	
	<p>Seçim Reaktif BORİK ASİT 1 – 5%</p> <p>DİKKAT H315 - Cilt tahrişine neden olur H319 - Ciddi göz tahrişine neden olur</p>
	<p>Hedef Yakalama Reaktif HEPES %5 – 10 EDTA %1 – 5 Lityum Hidroksit, Monohidrat %1 - 5</p> <p>— H412 - Uzun süreli etkilerle sucul yaşam için zararlıdır P273 - Çevreye salmaktan kaçının P280 - Göz koruması/yüz koruması kullanın</p>



İşbu belgenin tarafımdan İngilizce aslından ...'ye tercüme edildiğini teyit ederim.
Yeminli Mütercim *Silvia Costa*

—	—	Amplifikasyon Reaktifi HEPES % 25 - 30 H412 - Sucul yaşam için uzun süreli etkilerle zararlıdır P273 - Çevreye salınmasını önleyin P280 - Göz koruması/yüz koruması kullanın
—	—	Enzim Reaktifi HEPES% 1 - 5 H412 - Uzun süreli etkileriyle suda yaşayan canlılar için zararlıdır. P273 - Çevreye salınmasından kaçının P280 - Göz koruması/yüz koruması kullanın.
—	—	Prob Reaktifi LAURİL SÜLFAT LITYUM TUZU %35 – 40 SÜKSİNİK ASİT %10 – 15 LITYUM HIDROKSİT MONOHİDRAT %10 – 15 H412 - Sucul yaşam için uzun süreli etkilerle zararlıdır P273 - Çevreye salınmasını önleyin P280 - Göz koruması/yüz koruması kullanın

Reaktif Depolama ve Elleçleme Gereklilikleri

Reaktifleri flakonların üzerinde belirtilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayın. Ek saklama talimatları için aşağıya bakın.

A. Aşağıdaki reaktifler teslim alındıktan sonra 2°C ila 8°C'de (soğutulmuş) saklanır:

- HPV Amplifikasyon Reaktifi
- HPV Enzim Reaktifi
- HPV Prob Reaktifi
- HPV Dahili Kontrol Reaktifi
- HPV Pozitif Kalibratörler ve Negatif Kalibratörler

B. Aşağıdaki reaktifler 15°C ila 30°C'de (oda sıcaklığı) saklanır:

- HPV Amplifikasyon Rekonstitüsyon Çözeltilisi
- HPV Enzim Sulandırma Solüsyonu
- HPV Probu Yeniden Yapılandırma Çözeltilisi
- HPV Hedef Yakalama Reaktifi
- HPV Seçim Reaktifi

C. Sulandırıldıktan sonra, aşağıdaki reaktifler 2°C ila 8°C'de saklandığında 30 gün boyunca stabildir:

- HPV Amplifikasyon Reaktifi
- HPV Enzim Reaktifi
- HPV Prob Reaktifi

HPV Prob Reaktifi

D. Çalışma Hedefi Yakalama Reaktifi (wTCR) 15°C ila 30°C'de saklandığında 30 gün boyunca stabildir. Buzdolabında saklamayın.



İşbu belgenin tarafımdan İngilizce aslından Türkçeye tercüme edildiğini teyit ederim.
Yeminli Mütercim Şirvan Çelikkaya

- E. Kullanılmamış sulandırılmış reaktifleri ve wTCR'yi 30 gün sonra veya Ana Lot son kullanma tarihinden sonra (hangisi önce gelirse) atın.
- F. Aptima HPV tahlil reaktifleri Panther Sisteminde saklandığında toplam 72 saat boyunca stabildir.
- G. Prob Reaktif ve Sulandırılmış Prob Reaktifi ışığa duyarlıdır. Reaktifleri ışıktan koruyarak saklayın.
- H. **Reaktifleri dondurmayın.**

Numune Toplama ve Saklama

A. Numune toplama ve işleme

ThinPrep sıvı sitoloji numuneleri

1. Servikal numuneleri PreservCyt solüsyonu içeren ThinPrep Pap test şişelerinde süpürge tipi veya sitobrush/spatula toplama cihazlarıyla üreticinin talimatlarına göre toplayın.
2. ThinPrep 2000 işlemci, ThinPrep 5000 İşlemci, otomatik yükleyicili ThinPrep 5000 işlemci veya ThinPrep Genesis işlemci ile işlemden önce veya sonra, 1 mL ThinPrep sıvı sitoloji numunesini Aptima Numune Transfer Kiti ve Aptima Transfer Solüsyonu prospektüsündeki talimatlara göre bir Aptima Numune Transfer tüpüne aktarın.

SurePath sıvı sitoloji numuneleri

1. SurePath Pap Testi ve/veya PrepStain Sistemi kullanım talimatlarına göre bir SurePath sıvı sitoloji örneği toplayın.
2. SurePath sıvı sitoloji örneğini Aptima Numune Transfer Kiti ve Aptima Transfer Solüsyonu prospektüsündeki talimatlara göre bir Aptima Numune Transfer tüpüne aktarın.

Aptima Servikal Numune Toplama ve Taşıma Kiti numuneleri

Numuneyi Aptima CSCT Kiti kullanım talimatlarına göre toplayın.

B. Testten önce taşıma ve depolama

ThinPrep sıvı sitoloji numuneleri

1. ThinPrep sıvı sitoloji numunelerini 2°C ila 30°C'de taşıyın.
2. Numuneler, alındıktan sonraki 105 gün içinde bir Aptima Numune Transfer tüpüne aktarılmalıdır.
3. Transfer öncesinde, ThinPrep sıvı sitoloji numuneleri 2°C ila 30°C'de saklanmalı, 8°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda 30 günden fazla tutulmamalıdır.
4. Bir Aptima Numune Transfer tüpüne aktarılan ThinPrep sıvı sitoloji numuneleri 2°C ila 30°C'de 60 güne kadar saklanabilir.
5. Daha uzun süre saklama gerekiyorsa, ThinPrep sıvı sitoloji numunesi veya Numune Transfer tüpüne seyreltilmiş ThinPrep sıvı sitoloji numunesi -20°C'de veya daha soğukta 24 aya kadar saklanabilir.

SurePath sıvı sitoloji numuneleri

1. SurePath sıvı sitoloji numunelerini 2°C ila 25°C'de taşıyın.
2. Numuneler, alındıktan sonraki 7 gün içinde bir Aptima Numune Transfer tüpüne aktarılmalıdır.
3. SurePath sıvı sitoloji numuneleri transfer edilmeden önce 2°C ila 25°C'de saklanmalıdır.



İşbu belgenin tarafımdan İngilizce
aslından...ye tercüme
edildiğini teyit ederim.
Yeminli Mütercim *[Signature]*

4. Bir Aptima Numune Transfer tüpüne aktarılan SurePath sıvı sitoloji numuneleri 2°C ila 25°C'de 7 güne kadar saklanabilir.

Aptima Servikal Numune Toplama ve Taşıma Kiti numuneleri

1. Numuneleri 2°C ila 30°C'de 60 güne kadar taşıyın ve saklayın.
2. Daha uzun süreli saklama gerekiyorsa, taşıma kiti numuneleri -20°C'de veya daha soğukta 24 aya kadar saklanabilir.

C. SurePath Sıvı Sitoloji Numune İşlemi

Not: SurePath sıvı sitoloji numuneleri Aptima HPV testi ile test edilmeden önce Aptima Transfer Solüsyonu ile muamele edilmelidir.

1. Aptima Transfer Çözeltisi

İşlem görmüş numuneler Aptima HPV tahlili ile test edilmeden önce 17 güne kadar 2°C ila 8°C'de saklanabilir. Daha fazla ayrıntı için Aptima Numune Transfer Kiti ve Aptima Transfer Solüsyonu prospektüsüne bakın.

D. Testten sonra numunenin saklanması

1. Tahlil edilen numuneler bir rafta dik olarak saklanmalıdır.
2. Numune tüpleri yeni, temiz bir plastik veya folyo bariyer ile kaplanmalıdır.
3. Tahlil edilen numunelerin dondurulması veya gönderilmesi gerekiyorsa, delinebilir kapağı çıkarın ve numune tüplerine delinemez yeni kapaklar yerleştirin. Numunelerin başka bir tesiste test edilmek üzere gönderilmesi gerekiyorsa, belirtilen sıcaklıklar korunmalıdır. Daha önce test edilmiş ve yeniden kapatılmış numunelerin kapaklarını açmadan önce numune tüpleri 420 Bağlı Santrifüj Kuvvetinde (RCF) 5 dakika santrifüj edilerek tüm sıvının tüpün dibine inmesi sağlanmalıdır.

Not: Numuneler, geçerli ulusal ve uluslararası nakliye yönetmeliklerine uygun olarak sevk edilmelidir.



İşbu belgenin tarafımdan İngilizce aslından'ye tercüme edildiğini teyit ederim.
Yeminli Mütercim *Silvan Çelik*

Panther Sistemi

Aptima HPV tahlili için reaktifler Panther Sistemi için aşağıda listelenmiştir. Reaktif Tanımlama Sembolleri de reaktif adının yanında listelenmiştir.

Sağlanan Reaktifler ve Malzemeler

Aptima HPV testi, 250 test, Cat. No. 303093 (3 kutu)

Aptima HPV testi, 100 test, Cat. No. 302929 (3 kutu)

Kalibratörler ayrı olarak satın alınabilir. Aşağıdaki katalog numaralarına bakınız.

Aptima HPV Soğutmalı Kutu

(teslim aldıktan sonra 2°C ila 8°C'de saklayın)

Sembol	Bileşen	Miktar
A	HPV Amplifikasyon Reaktifi <i>Enfeksiyöz olmayan nükleik asitler <%5 hacim arttırıcı madde içeren tamponlu çözelti içinde kurutulur.</i>	1 flakon
E	HPV Enzim Reaktifi <i>Ters transkriptaz ve RNA polimeraz, <%10 hacim arttırıcı reaktif içeren HEPES tamponlu çözeltide kurutulmuştur.</i>	1 flakon
P	HPV Prob Reaktifi <i>Enfeksiyöz olmayan kemilüminesan DNA probları (<500 ng/şişe) <%5 deterjan içeren süksinat tamponlu çözeltide kurutulur.</i>	1 flakon
IC	HPV Dahili Kontrol Reaktifi <i><%5 deterjan içeren tamponlu çözeltide bulaşıcı olmayan RNA transkripti.</i>	1 flakon

Aptima HPV Oda Sıcaklığı Kutusu

(teslim aldıktan sonra oda sıcaklığında, 15°C ila 30°C'de saklayın)

Sembol	Bileşen	Miktar
AR	HPV Amplifikasyon Rekonstitüsyon Çözeltisi <i>Koruyucu içeren sulu çözelti.</i>	1
ER	HPV Enzim Sulandırma Solüsyonu <i>Bir yüzey aktif madde ve gliserol içeren HEPES tamponlu çözelti.</i>	1
PR	HPV Probu Yeniden Yapılandırma Çözeltisi <i><%5 deterjan içeren süksinat tamponlu çözelti.</i>	1
S	HPV Seçim Reaktifi <i>600 mM borat tamponlu yüzey aktif madde içeren çözelti.</i>	1
TCR	HPV Hedef Yakalama Reaktifi <i>Katı faz ve yakalama oligomerleri (<0,5 mg/mL) içeren tamponlanmış çözelti.</i>	1
	Yeniden Yapılandırma Halkaları	3
	Ana Lot Barkod Sayfası	1 sayfa



İşbu belgenin tarafımdan *İsmail*
aslından *İsmail*'ye tercüme
edildiğini teyit ederim.

Yeminli Mütercim *İsmail*

Aptima HPV Kalibratör Kutusu (Kat. No. 302554)
(teslim aldıktan sonra 2°C ila 8°C'de saklayın)

Sembol	Bileşen	Quantity
PCAL	HPV Pozitif Kalibratör <i>Bulaşıcı olmayan HPV 16 in vitro transkripti, <%5 deterjan içeren tamponlanmış bir çözelti içinde mL başına 1000 kopya.</i>	5 flakon
NCAL	HPV Negatif Kalibratör <i><%5 deterjan içeren tamponlanmış çözelti.</i>	5 flakon

Malzemeler Gerekli Ancak Ayrı Olarak Temin Edilebilir

Not: Aksi belirtilmedikçe, Hologic'ten temin edilebilen malzemelerin katalog numaraları listelenmiştir.

Materyal	Cat. No.
Panther Sistem	303095
Panther Sistemi Sürekli Sıvı ve Atık (Panther Plus)	PRD-06067
Panther Çalıştırma Kiti	303096
<i>Aptima Test Sıvıları Kiti</i>	303014
<i>(Aptima Yıkama Solüsyonu, Aptima Deaktivasyon Sıvısı için Tampon ve Aptima Yağ Reaktif)</i>	
<i>Aptima Otomatik Algılama Kiti</i>	303013
<i>Çok tüplü üniteler (MTU'lar)</i>	104772-02
<i>Panther Atık Torbası Kiti</i>	902731
<i>Panther Çöp Kovası Kapağı</i>	504405
Uçlar, 1000 µL filtrelili, iletken, sıvı algılayıcı ve tek kullanımlık Tüm ürünler tüm bölgelerde mevcut değildir. Bölgeye özgü bilgiler için temsilcinizle iletişime geçin	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Aptima Numune Transfer Kiti	301154C
Aptima Numune Transfer Kiti - yazdırılabilir	PRD-05110
Aptima Servikal Numune Toplama ve Taşıma Kiti	302657
Aptima Delinebilir Kapaklar	105668
Yedek delinmez kapaklar	103036A
250 test kiti için Yedek Kapaklar:	—
<i>Amplifikasyon Reaktif ve Prob Reaktif sulandırma solüsyonları</i>	CL0041
<i>Enzim Reaktif sulandırma solüsyonu</i>	501616
<i>TCR ve Seçim Reaktif</i>	CL0040
100 test kiti için Yedek Kapaklar:	—
<i>Amplifikasyon Reaktif ve Prob Reaktif sulandırma solüsyonları</i>	CL0041
<i>Enzim Reaktif sulandırma çözeltisi</i>	CL0041
<i>TCR ve Seçim Reaktif</i>	501604
Çamaşır suyu %5,0 ila %8,25 (0,7 M ila 1,16 M) sodyum hipoklorit çözeltisi	—
Tek kullanımlık eldivenler	—
Aptima Transfer Solüsyon Kiti (sadece SurePath numuneleri için)	303658

İşbu belgenin tarafımdan tasdik edilmiş olduğunu ve içeriğinin doğru ve eksiksiz olarak aktarıldığını teyit ederim.
Yeminli Mütercim *[Signature]*



İsteğe Bağlı Malzemeler

Materyal

Cat. No.

Temizlik için Ağartıcı Güçlendirici

302101

Panther Sistem Test Prosedürü

Not: Ek Panther Sistemi prosedür bilgileri için Panther/Panther Fusion Sistemi Operatör Kılavuzuna bakın.

A. Çalışma Alanının Hazırlanması

Reaktiflerin ve numunelerin hazırlanacağı çalışma yüzeylerini temizleyin. Çalışma yüzeylerini %2,5 ila %3,5 (0,35 M ila 0,5 M) sodyum hipoklorit çözeltisi ile silin. Sodyum hipoklorit çözeltisinin yüzeylerle en az 1 dakika temas etmesine izin verin ve ardından suyla durulayın. Sodyum hipoklorit çözeltisinin kurumasına izin vermeyin. Reaktiflerin ve numunelerin hazırlanacağı tezgah yüzeyini temiz, plastik destekli emici laboratuvar tezgah örtüleriyle örtün.

B. Yeni Bir Kit İçin Reaktif Hazırlama

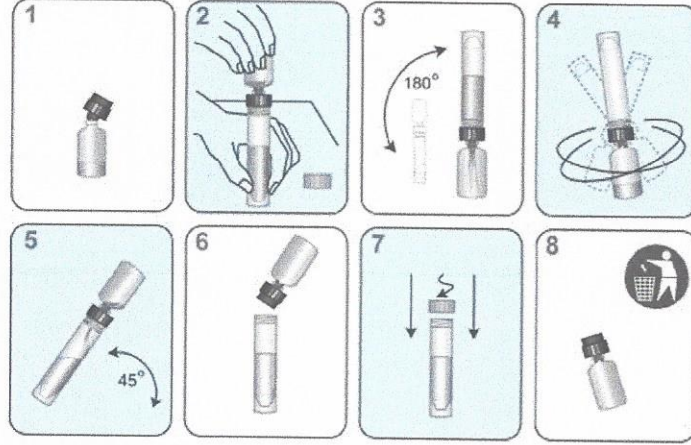
Not: Panther Sistemi üzerinde herhangi bir çalışmaya başlamadan önce Reaktif Sulandırma işlemi gerçekleştirilmelidir.

1. Amplifikasyon, Enzim ve Prob Reaktiflerini sulandırmak için liyofilize reaktif şişelerini sulandırma solüsyonuyla birleştirin. Soğutulmuşsa, kullanmadan önce sulandırma solüsyonlarının oda sıcaklığına ulaşmasını bekleyin.
 - a. Her bir sulandırma solüsyonunu liyofilize reaktifle eşleştirin. Sulandırma halkasını takmadan önce sulandırma çözeltisi ve reaktifin etiket renklerinin eşleştiğinden emin olun.
 - b. Uygun reaktiflerin eşleştirildiğinden emin olmak için Ana Lot Barkod Sayfasındaki lot numaralarını kontrol edin.
 - c. Liyofilize reaktif flakonunu açın ve sulandırma bileziğinin çentikli ucunu flakon açıklığına sıkıca yerleştirin (Şekil 1, Adım 1).
 - d. Eşleşen sulandırma solüsyonunu açın ve kapağı temiz, kapalı bir çalışma yüzeyine yerleştirin.
 - e. Çözelti şişesini tezgah üzerinde tutarken, sulandırma bileziğinin diğer ucunu şişeye sıkıca yerleştirin (Şekil 1, Adım 2).
 - f. Birleştirilmiş şişeleri yavaşça ters çevirin. Çözeltinin şişeden cam şişeye akmasına izin verin (Şekil 1, Adım 3).
 - g. İyice karıştırmak için şişedeki çözeltiyi yavaşça döndürün. Şişeyi döndürürken köpük oluşturmaktan kaçının (Şekil 1, Adım 4).
 - h. Liyofilize reaktifin çözelti haline gelmesini bekleyin, ardından monte edilmiş şişeleri tekrar ters çevirin ve köpüklenmeyi en aza indirmek için 45° açıyla eğin (Şekil 1, Adım 5). Tüm sıvının plastik şişeye geri akmasına izin verin.
 - i. Sulandırma halkasını ve cam şişeyi çıkarın (Şekil 1, Adım 6).
 - j. Plastik şişeyi tekrar kapatın. Sulandırılan tüm reaktif şişelerine operatörün baş harflerini ve sulandırma tarihini kaydedin (Şekil 1, Adım 7).
 - k. Sulandırma halkasını ve flakonunu atın (Şekil 1, Adım 8).



İşbu belgenin tarafımdan ...ingiliz
aslından ...'ye tercüme
edildiğini teyit ederim.
Yeminli Mütercim

Uyarı: Reaktifleri sulandırırken köpük oluşturmaktan kaçının. Köpük, Panther Sistemindeki seviye algılamasını tehlikeye atar.



Şekil 1. Panther Sistemi Yeniden Oluşturma Süreci

2. Çalışan Hedef Yakalama Reaktifini (wTCR) hazırlayın:
 - a. Uygun TCR ve IC şişelerini eşleştirin.
 - b. Kitteki uygun reaktiflerin eşleştirildiğinden emin olmak için Ana Lot Barkod Sayfasındaki reaktif lot numaralarını kontrol edin.
 - c. TCR şişesini açın ve kapağı temiz, kapalı bir çalışma yüzeyine koyun.
 - d. C şişesini açın ve içeriğinin tamamını TCR şişesine dökün. IC şişesinde az miktarda sıvı kalmasını bekleyin.
 - e. TCR şişesinin kapağını kapatın ve içindekileri karıştırmak için çözeltiyi hafifçe döndürün. Bu adım sırasında köpük oluşturmaktan kaçının.
 - f. Etiketlin üzerine operatörün baş harflerini ve geçerli tarihi kaydedin.
 - g. IC şişesini ve kapağını atın.
 - h. wTCR'de çökelti oluşabilir ve bu da hacim doğrulama hataları nedeniyle geçersiz sonuçlara yol açabilir. Çökelti, wTCR'nin 42°C ila 60°C'de 90 dakikaya kadar ısıtılmasıyla çözülebilir. Kullanmadan önce wTCR'nin oda sıcaklığına dengelenmesini bekleyin. Çökelti devam ederse kullanmayın.
3. Seçim Reaktifini Hazırlayın
 - a. Kite ait olduğundan emin olmak için Ana Lot Barkod Sayfasındaki reaktif lot numarasını kontrol edin.
 - b. Seçim Reaktif çökelti içeriyorsa, çökeltinin çözünmesini kolaylaştırmak için Seçim Reaktifini 60°C ± 1°C'de 45 dakikaya kadar ısıtın. Şişeyi her 5 ila 10 dakikada bir hafifçe karıştırın. Kullanmadan önce Seçim Reaktifinin oda sıcaklığına dengelenmesini bekleyin. Çökelti veya bulanıklık devam ederse kullanmayın.

Not: Sisteme yüklemeden önce tüm reaktifleri nazikçe ters çevirerek iyice karıştırın. Reaktiflerin ters çevrilmesi sırasında köpük oluşmasını önleyin.

C. Önceden Sulandırılmış Reaktifler için Reaktif Hazırlama

1. Önceden sulandırılmış Amplifikasyon, Enzim ve Prob Reaktifleri, tahlil başlamadan önce oda sıcaklığına (15°C ila 30°C) ulaşmalıdır.
2. Sulandırılmış Prob Reaktifi oda sıcaklığında çözeltiye dönmeyen çökelti içeriyorsa, 1 ila 2 dakika boyunca 60°C'yi aşmayan bir sıcaklıkta ısıtın. Çökelti veya bulanıklık varsa kullanmayın.



İşbu belgenin tarafımdan...
12...
edildiğini teyit ederim.
Yeminli Mütercim

3. WTCR çökelti içeriyorsa, wTCR'yi 42°C ila 60°C'de 90 dakikaya kadar ısıtın. Kullanmadan önce wTCR'nin oda sıcaklığına dengelenmesini bekleyin. Çökelti devam ederse kullanmayın.
4. Seçim Reaktif çökelti içeriyorsa, çökeltinin çözünmesini kolaylaştırmak için Seçim Reaktifini 60°C ± 1°C'de 45 dakikaya kadar ısıtın. Şişeyi her 5 ila 10 dakikada bir hafifçe karıştırın. Kullanmadan önce Seçme Reaktifinin oda sıcaklığına dengelenmesini bekleyin. Çökelti veya bulanıklık devam ederse kullanmayın.
5. Sisteme yüklemeyen önce her bir reaktif nazikçe ters çevirerek iyice karıştırın. Reaktiflerin ters çevrilmesi sırasında köpük oluşmasını önleyin.
6. Reaktif şişelerini doldurmayın. Panther Sistemi doldurulmuş şişeleri tanıyacak ve reddedecektir.

D. Numune Elleçleme

1. İşlemden önce numunelerin (kalibratörler ve numuneler) oda sıcaklığına ulaşmasını bekleyin.
2. **Numuneleri vortekslemeyin.**
3. Rafa yerleştirmeden önce numune tüplerini inceleyin. Bir numune tüpü kabarcıklar içeriyorsa veya tipik olarak gözlemlenenenden daha düşük bir hacme sahipse, kapakta sıvı olmadığından emin olmak için tüpü 420 RCF'de 5 dakika santrifüjleyin.

Not: Adım 3'e uyulmaması numune tüpü kapağından sıvı boşalmasına neden olabilir.

E. Sistem Hazırlığı

1. Sistemi Panther Sistemi Operatör El Kitabındaki talimatlara ve aşağıdaki Prosedür Notları bölümüne göre kurun. Uygun boyutta reaktif raflarının ve TCR adaptörlerinin kullanıldığından emin olun.
2. Numuneleri yükleyin.

Prosedür Notları

A. Kalibratörler

1. Panther Sisteminde Aptima HPV tahlil yazılımıyla düzgün çalışmak için Pozitif Kalibratörün üç kopyası ve Negatif Kalibratörün üç kopyası gereklidir. Her kalibratörden bir şişe Panther Sistemindeki herhangi bir Numune Bölmesi Şeridindeki herhangi bir raf konumuna yüklenebilir. Aşağıdaki iki koşuldan biri karşılandığında numune pipetleme işlemi başlayacaktır:
 - a. Bir Pozitif ve Negatif Kalibratör şu anda sistem tarafından işlenmektedir.
 - b. Kalibratörler için geçerli sonuçlar sisteme kaydedilir.
2. Kalibratör tüpleri pipetlendikten ve belirli bir reaktif kiti için işlendikten sonra, numuneler ilgili tahlil reaktif kiti ile 24 saate kadar çalıştırılabilir.:
 - a. Kalibratör sonuçları geçersiz.
 - b. İlgili tahlil reaktif kiti sistemden çıkarılır.
 - c. İlgili tahlil reaktif kiti stabilite limitlerini aşmıştır.
3. Bir kalibratör tüpünden üçten fazla replikat pipetleme girişimleri işlem hatalarına yol açabilir.

B. Sıcaklık

Oda sıcaklığı 15°C ila 30°C olarak tanımlanır.

İşbu belgenin tarafımdan *İsmail*
aslından *Sh.Ce.*ye tercüme
edildiğini teyit ederim.
Yeminli Mütercim *S. S. S.*



C. Eldiven Tozu

Her reaktif sisteminde olduğu gibi, bazı eldivenlerdeki fazla pudra açılan tüplerin kontaminasyonuna neden olabilir. Pudrasız eldivenler tavsiye edilir.



İşbu belgenin tarafımdan İngilizce
aslından Türkçeye tercüme
edildiğini teyit ederim.
Yeminli Mütercim Sinan Çelik

Kalite Kontrol Prosedürleri

A. Çalıştırma Geçerlilik Kriterleri

Yazılım çalıştırma geçerliliğini otomatik olarak belirler. Aşağıdaki koşullardan herhangi biri gerçekleşirse yazılım bir çalıştırmayı geçersiz kılacaktır:

- Birden fazla geçersiz Negatif Kalibratör replikası.
- Birden fazla geçersiz Pozitif Kalibratör replikası.

Tahlil gerçekleştirilirken teknik, operatör veya cihaz zorlukları gözlemlenir ve belgelenirse, bir çalışma operatör tarafından geçersiz kılınabilir.

Geçersiz bir çalıştırma tekrarlanmalıdır. İptal edilen çalıştırmalar tekrarlanmalıdır.

B. Kalibratör Kabul Kriterleri

Aşağıdaki tablo Negatif ve Pozitif Kalibratör replikaları için RLU kriterlerini tanımlamaktadır.

Negatif Kalibratör	Analit	≥ 0 ve $\leq 45,000$ RLU
	IC	$\geq 75,000$ ve $\leq 400,000$ RLU
Pozitif Kalibratör	Analit	$\geq 480,000$ ve $\leq 1,850,000$ RLU
	IC	$\leq 450,000$ RLU

C. IC Kesme Hesaplaması

IC kesimi, geçerli Negatif Kalibratör kopyalarından gelen IC (flaşör) sinyalinden belirlenir.

$$IC \text{ Kesme} = 0.5 \times [\text{Geçerli Negatif Kalibratör replikalarının ortalama IC RLU'su}]$$

D. Analit Kesme Hesaplaması

Analit kesme değeri, geçerli Negatif Kalibratör replikatlarından gelen analit (parlama) sinyalinin yanı sıra geçerli Pozitif Kalibratör replikatlarından gelen analit sinyalinden belirlenir

$$Analit \text{ Kesme} = \frac{[\text{geçerli Negatif Kalibratör replikatlarının ortalama analit RLU'su}] + [0,09 \times \text{geçerli Pozitif Kalibratör replikatlarının ortalama analit RLU'su}]}{2}$$

E. Analit Sinyal-Kesme (S/CO) Hesaplaması

Analit S/CO, test numunesinin analit RLU'sundan ve çalıştırma için analit kesme değerinden belirlenir.

$$Analit \text{ S/CO} = \frac{\text{test numunesi analit RLU}}{\text{Analit kesme}}$$



İşbu belgenin tarafımdan: *[Signature]*
 aslından *[Signature]* 'ye tercüme
 edildiğini teyit ederim.
 Yeminli Mütercim *[Signature]*

Testin Yorumlaması

Tahlil test sonuçları tahlil yazılımı tarafından otomatik olarak belirlenir. Bir test sonucu, Analit için IC RLU ve S/CO tarafından belirlendiği şekilde negatif, pozitif veya geçersiz olabilir. Bir test sonucu, diğer parametrelerin (anormal kinetik eğri şekli) normal beklenen aralıkların dışında olması nedeniyle de geçersiz olabilir. İlk geçersiz test sonuçları tekrarlanmalıdır.

Aptima CSCT Kiti numuneleri potansiyel inhibitör maddelerin üstesinden gelmek için seyreltilebilir. Geçersiz numunenin 1 parçasını 8 parça numune taşıma ortamına (CSCT Kiti tüplerindeki çözelti) seyreltin; örneğin 560 µL numuneyi 4,5 mL numune taşıma ortamı içeren yeni bir CSCT Kiti tüpüne koyun. Karıştırmak için seyreltilmiş numuneyi yavaşça ters çevirin; köpük oluşumundan kaçının. Seyreltilmiş numuneyi standart tahlil prosedürüne göre test edin.

Not: Numunenin 1 alikotunu test etmek için minimum 1,7 mL hacim gereklidir. Geçersiz bir seyreltilmiş numuneyi seyreltmeyin. Seyreltilmiş bir numune geçersiz bir sonuç verirse, hastadan yeni bir numune alınmalıdır.

Aptima HPV Test Sonucu	Kriter
Negatif	Analit S/CO < 0.50 IC ≥ IC Kesme IC ≤ 2,000,000 RLU
Pozitif	Analit S/CO ≥ 0.50 IC ≤ 2,000,000 RLU Analit ≤ 13,000,000 RLU
Geçersiz	IC > 2,000,000 RLU veya Analit S/CO < 0.50 ve IC < IC Kesme veya Analit > 13,000,000 RLU



İşbu belgenin tarafımdan İngilizce aslından Türkçeye tercüme edildiğini teyit ederim.
Yeminli Mütercim **SİMAN CAH**

Aptima™ HPV Assay (Panther™ System)

Instructions for Use
 For *in vitro* diagnostic use
 For U.S. export only

General Information2

 Intended Use2

 Summary and Explanation of the Test2

 Principles of the Procedure3

 Summary of Safety and Performance4

 Warnings and Precautions4

 Reagent Storage and Handling Requirements6

 Specimen Collection and Storage7

Panther System9

 Reagents and Materials Provided9

 Materials Required But Available Separately10

 Optional Materials11

 Panther System Test Procedure11

 Procedural Notes13

Quality Control Procedures15

Test Interpretation16

Limitations17

Panther System Expected Results: Prevalence of High-Risk HPV mRNA19

Panther System Assay Performance22

Bibliography50

Contact Information and Revision History52



General Information

Intended Use

The Aptima HPV assay is a target amplification nucleic acid probe test for the *in vitro* qualitative detection of E6/E7 viral messenger RNA (mRNA) from 14 high-risk types of human papillomavirus (HPV) (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68). The Aptima HPV assay does not discriminate between the 14 high-risk types.

- The Aptima HPV assay is indicated for use in screening patients with ASC-US (atypical squamous cells of undetermined significance) Pap test results to determine the need for referral to colposcopy. The results of this test are not intended to prevent women from proceeding to colposcopy.
- The Aptima HPV assay can be used with cervical cytology to adjunctively screen (co-testing) to assess the presence or absence of high risk HPV types. This information, together with the physician's assessment of cytology history, other risk factors, and professional guidelines, may be used to guide patient management.
- The Aptima HPV assay can be used as a first-line primary screening test, with or without cervical cytology, to identify women at increased risk for the development of cervical cancer or presence of high-grade disease. This information, together with the physician's assessment of the patient's screening history, other risk factors, and professional guidelines, may be used to guide patient management.

The Aptima HPV assay can be used to test the following specimen types on the Panther system: cervical specimens collected in ThinPrep™ Pap Test vials containing PreservCyt™ solution pre- or post-Pap processing, cervical specimens collected with the Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit, or cervical specimens collected in SurePath Preservative Fluid.

Summary and Explanation of the Test

Cervical cancer is one of the most common female cancers in the world. HPV is the etiological agent responsible for more than 99% of all cervical cancers.^{1,2,3} HPV is a common sexually transmitted DNA virus comprised of more than 100 genotypes.⁴

The HPV viral genome is a double-stranded circular DNA approximately 7900 base pairs in length. The genome has eight overlapping open reading frames. There are six early (E) genes, two late (L) genes, and one untranslated long control region. The L1 and L2 genes encode the major and minor capsid proteins. Early genes regulate HPV viral replication. The E6 and E7 genes from high-risk HPV genotypes are known oncogenes. Proteins expressed from E6/E7 polycistronic mRNA alter cellular p53 and retinoblastoma protein functions, leading to disruption of cell-cycle check points and cell genome instability.^{1,4}

Fourteen HPV genotypes are considered pathogenic or high-risk for cervical disease.⁵ Multiple studies have linked genotypes 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, and 68 to disease progression.^{2,6,7} Women with a persistent infection with one of these types have an increased risk for developing severe dysplasia or cervical carcinoma.^{5,8}

HPV infections are very common and most women will clear HPV infections within 6 to 12 months.^{2,9} The presence of HPV nucleic acid does not mean that cervical dysplasia or cervical cancer is present. However, an effective approach for detection of cervical disease is to target those oncogenic elements of HPV that foster persistent viral infection and cellular transformation.¹⁰



Aptima HPV Assay Clinical Performance in Primary Screening for Cervical Cancer

The clinical performance of the Aptima HPV assay when used in a primary screening modality has been investigated in multiple studies by independent investigators. At least 25 peer-reviewed publications¹¹⁻³⁵ from 15 separate clinical studies report the performance of Aptima HPV in primary screening in women enrolled in eleven countries (China, Canada, France, Mexico, England, Denmark, The Netherlands, The United States, Germany, Sweden, and Thailand). The data from these studies show that Aptima HPV has similar clinical performance compared to other clinically validated HPV tests when used for primary screening for cervical pre-cancer and cancer.

Principles of the Procedure

The Aptima HPV assay involves three main steps, which take place in a single tube: target capture, target amplification by Transcription-Mediated Amplification (TMA),⁴² and detection of the amplification products (amplicon) by the Hybridization Protection Assay (HPA).⁴³ The assay incorporates an Internal Control (IC) to monitor nucleic acid capture, amplification, and detection, as well as operator or instrument error.

Specimens are collected in or transferred to a tube containing specimen transport media (STM) that lyses the cells, releases the mRNA, and protects it from degradation during storage. When the Aptima HPV assay is performed, the target mRNA is isolated from the specimen by use of capture oligomers that are linked to magnetic microparticles. The capture oligomers contain sequences complementary to specific regions of the HPV mRNA target molecules as well as a string of deoxyadenosine residues. During the hybridization step, the sequence-specific regions of the capture oligomers bind to specific regions of the HPV mRNA target molecule. The capture oligomer:target complex is then captured out of solution by decreasing the temperature of the reaction to room temperature. This temperature reduction allows hybridization to occur between the deoxyadenosine region on the capture oligomer and the poly-deoxythymidine molecules that are covalently attached to the magnetic particles. The microparticles, including the captured HPV mRNA target molecules bound to them, are pulled to the side of the reaction tube using magnets and the supernatant is aspirated. The particles are washed to remove residual specimen matrix that may contain amplification inhibitors.

After target capture is complete, the HPV mRNA is amplified using TMA, which is a transcription-based nucleic acid amplification method that utilizes two enzymes, MMLV reverse transcriptase and T7 RNA polymerase. The reverse transcriptase is used to generate a DNA copy of the target mRNA sequence containing a promoter sequence for T7 RNA polymerase. T7 RNA polymerase produces multiple copies of RNA amplicon from the DNA copy template.

Detection of the amplicon is achieved by HPA using single-stranded nucleic acid probes with chemiluminescent labels that are complementary to the amplicon. The labeled nucleic acid probes hybridize specifically to the amplicon. The Selection Reagent differentiates between hybridized and unhybridized probes by inactivating the label on the unhybridized probes. During the detection step, light emitted from the labeled RNA:DNA hybrids is measured as photon signals called Relative Light Units (RLU) in a luminometer. Final assay results are interpreted based on the analyte signal-to-cutoff (S/CO).

IC is added to each reaction via the Target Capture Reagent. The IC monitors the target capture, amplification, and detection steps of the assay. IC signal in each reaction is discriminated from the HPV signal by the differential kinetics of light emission from probes with different labels.⁴⁴ IC-specific amplicon is detected using a probe with a rapid emission of light (flasher). Amplicon specific to HPV is detected using probes with relatively slower



kinetics of light emission (glower). The Dual Kinetic Assay (DKA) is a method used to differentiate between the signals from the flasher and glower labels.⁴⁴

Summary of Safety and Performance

The SSP (Summary of Safety and Performance) is available in the European database on medical devices (Eudamed), where it is linked to the device identifiers (Basic UDI-DI). To locate the SSP for Aptima HPV, refer to the Basic Unique Device Identifier (BUDI), which is: **54200455DIAGAPTHPVBR**.

Warnings and Precautions

- A. For *in vitro* diagnostic use.
- B. For professional use.
- C. For additional specific warnings and precautions refer to the *Panther/Panther Fusion System Operator's Manuals*.

Laboratory Related

- D. Use only supplied or specified disposable laboratory ware.
- E. Use routine laboratory precautions. Do not eat, drink, or smoke in designated work areas. Wear disposable, powderless gloves, protective eye wear, and laboratory coats when handling specimens and kit reagents. Wash hands thoroughly after handling specimens and kit reagents.
- F. **Warning: Irritant and Corrosive:** Avoid contact of Auto Detect 2 with skin, eyes and mucous membranes. If this fluid comes into contact with skin or eyes, wash the affected area with water. If this fluid spills, dilute the spill with water before wiping dry.
- G. Work surfaces, pipettes, and other equipment must be regularly decontaminated with 2.5% to 3.5% (0.35 M to 0.5 M) sodium hypochlorite solution. Refer to *Panther System Test Procedure* for more information.

Specimen Related

- H. Maintain proper temperature conditions during specimen shipping and storage to ensure the integrity of the specimen. Specimen stability has not been evaluated under shipping and storage conditions other than those recommended.
- I. Expiration dates listed on specimen collection/transfer kits and tubes pertain to the collection/transfer site and not the testing facility. Specimens collected/transferred any time prior to these expiration dates are valid for testing provided they have been transported and stored in accordance with the appropriate package insert, even if these expiration dates have passed.
- J. Specimens may be infectious. Use Universal Precautions when performing this assay. Proper handling and disposal methods should be established by the laboratory director. Only personnel adequately trained in handling infectious materials should be permitted to perform this procedure.




- K. Avoid cross-contamination during the specimen handling steps. Ensure that specimen containers do not contact one another, and discard used materials without passing over open containers. Change gloves if they come in contact with specimen.
- L. Upon piercing, liquid can discharge from tube caps under certain conditions. Refer to *Panther System Test Procedure* for more information.
- M. ThinPrep liquid cytology and Cervical Specimen Collection and Transport (CSCT) specimens should be rejected if a collection device has been left in the sample tube.
- N. SurePath liquid cytology specimens should be rejected if a collection device is not present in the vial.

Assay Related

- O. Store reagents at the specified temperatures. Performance of the assay may be affected by use of improperly stored reagents.
- P. Avoid microbial and ribonuclease contamination of reagents.
- Q. Do not use kit after its expiration date.
- R. Do not interchange, mix, or combine assay reagents or Calibrators from kits with different lot numbers.
- S. Aptima Assay Fluids and Aptima Auto Detect Reagents are not part of the Master Lot; any lot may be used.
- T. Thorough mixing of assay reagents is necessary to achieve accurate assay results.
- U. Tips with hydrophobic plugs must be used.
- V. Some reagents of this kit are labeled with risk and safety symbols.

Note: Hazard communication reflects the EU Safety Data Sheets (SDS) classifications. For hazard communication information specific to your region, refer to the region specific SDS on the Safety Data Sheet Library at www.hologic.com/sds. For more information on the symbols, refer to the symbol legend on <https://www.hologic.com/package-inserts>.

EU Hazard Information	
	<p>Selection Reagent BORIC ACID 1 – 5%</p> <p>WARNING H315 – Causes skin irritation H319 – Causes serious eye irritation</p>
	<p>Target Capture Reagent HEPES 5 – 10% EDTA 1 – 5% Lithium Hydroxide, Monohydrate 1 – 5%</p> <p>— —</p> <p>H412 – Harmful to aquatic life with long lasting effects P273 – Avoid release to the environment P280 – Wear eye protection/ face protection</p>



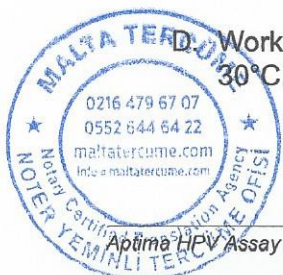
—	—	Amplification Reagent HEPES 25 - 30% H412 - Harmful to aquatic life with long lasting effects P273 - Avoid release to the environment P280 - Wear eye protection/ face protection
—	—	Enzyme Reagent HEPES 1 - 5% H412 - Harmful to aquatic life with long lasting effects. P273 - Avoid release to the environment P280 - Wear eye protection/ face protection.
—	—	Probe Reagent LAURYL SULFATE LITHIUM SALT 35 - 40% SUCCINIC ACID 10 - 15% LITHIUM HYDROXIDE MONOHYDRATE 10 - 15% H412 - Harmful to aquatic life with long lasting effects P273 - Avoid release to the environment P280 - Wear eye protection/ face protection

Reagent Storage and Handling Requirements

Do not use reagents beyond the expiration date indicated on the vials. See below for additional storage instructions.

- A. The following reagents are stored at 2°C to 8°C (refrigerated) upon receipt:
 - HPV Amplification Reagent
 - HPV Enzyme Reagent
 - HPV Probe Reagent
 - HPV Internal Control Reagent
 - HPV Positive Calibrators and Negative Calibrators
- B. The following reagents are stored at 15°C to 30°C (room temperature):
 - HPV Amplification Reconstitution Solution
 - HPV Enzyme Reconstitution Solution
 - HPV Probe Reconstitution Solution
 - HPV Target Capture Reagent
 - HPV Selection Reagent
- C. After reconstitution, the following reagents are stable for 30 days when stored at 2°C to 8°C:
 - HPV Amplification Reagent
 - HPV Enzyme Reagent
 - HPV Probe Reagent

- D. Working Target Capture Reagent (wTCR) is stable for 30 days when stored at 15°C to 30°C. Do not refrigerate.



- E. Discard any unused reconstituted reagents and wTCR after 30 days or after the Master Lot expiration date, whichever comes first.
- F. The Aptima HPV assay reagents are stable for a cumulative 72 hours when stored on board the Panther System.
- G. The Probe Reagent and Reconstituted Probe Reagent are photosensitive. Store the reagents protected from light.
- H. **Do not freeze reagents.**

Specimen Collection and Storage

A. Specimen collection and processing

ThinPrep liquid cytology specimens

1. Collect cervical specimens in ThinPrep Pap test vials containing PreservCyt solution with broom-type or cytobrush/spatula collection devices according to the manufacturer's instructions.
2. Prior to or after processing with the ThinPrep 2000 processor, ThinPrep 5000 Processor, ThinPrep 5000 processor with autoloader, or ThinPrep Genesis processor, transfer 1 mL of the ThinPrep liquid cytology specimen into an Aptima Specimen Transfer tube according to the instructions in the Aptima Specimen Transfer Kit and Aptima Transfer Solution package insert.

SurePath liquid cytology specimens

1. Collect a SurePath liquid cytology specimen according to the SurePath Pap Test and/or PrepStain System instructions for use.
2. Transfer the SurePath liquid cytology specimen into an Aptima Specimen Transfer tube according to the instructions in the Aptima Specimen Transfer Kit and Aptima Transfer Solution package insert.

Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit specimens

Collect the specimen according to the Aptima CSCT Kit instructions for use.

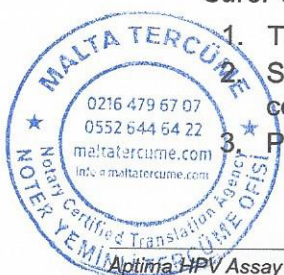
B. Transport and storage before testing

ThinPrep liquid cytology specimens

1. Transport the ThinPrep liquid cytology specimens at 2°C to 30°C.
2. Specimens should be transferred to an Aptima Specimen Transfer tube within 105 days of collection.
3. Prior to transfer, ThinPrep liquid cytology specimens should be stored at 2°C to 30°C, with no more than 30 days at temperatures above 8°C.
4. ThinPrep liquid cytology specimens transferred to an Aptima Specimen Transfer tube may be stored at 2°C to 30°C for up to 60 days.
5. If longer storage is needed, the ThinPrep liquid cytology specimen or the ThinPrep liquid cytology specimen diluted into the Specimen Transfer tube may be stored at -20°C or colder for up to 24 months.

SurePath liquid cytology specimens

1. Transport the SurePath liquid cytology specimens at 2°C to 25°C. Specimens should be transferred to an Aptima Specimen Transfer tube within 7 days of collection.
3. Prior to transfer, SurePath liquid cytology specimens should be stored at 2°C to 25°C.



4. SurePath liquid cytology specimens transferred to an Aptima Specimen Transfer tube may be stored at 2°C to 25°C for up to 7 days.

Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit specimens

1. Transport and store specimens at 2°C to 30°C for up to 60 days.
2. If longer storage is needed, transport kit specimens may be stored at -20°C or colder for up to 24 months.

C. SurePath Liquid Cytology Specimen Treatment

Note: *SurePath liquid cytology specimens must be treated with the Aptima Transfer Solution prior to testing with the Aptima HPV assay.*

1. Aptima Transfer Solution

Treated samples may be stored at 2°C to 8°C for up to 17 days prior to testing with the Aptima HPV assay. Refer to the Aptima Specimen Transfer Kit and Aptima Transfer Solution package insert for further details.

D. Specimen storage after testing

1. Specimens that have been assayed must be stored upright in a rack.
2. Specimen tubes should be covered with a new, clean plastic or foil barrier.
3. If assayed samples need to be frozen or shipped, remove penetrable cap and place new non-penetrable caps on the specimen tubes. If specimens need to be shipped for testing at another facility, specified temperatures must be maintained. Prior to uncapping previously tested and recapped samples, specimen tubes must be centrifuged for 5 minutes at 420 Relative Centrifugal Force (RCF) to bring all of the liquid down to the bottom of the tube.

Note: *Specimens must be shipped in accordance with applicable national and international transportation regulations.*



Panther System

Reagents for the Aptima HPV assay are listed below for the Panther System. Reagent Identification Symbols are also listed next to the reagent name.

Reagents and Materials Provided

Aptima HPV assay, 250 tests, Cat. No. 303093 (3 boxes)

Aptima HPV assay, 100 tests, Cat. No. 302929 (3 boxes)

Calibrators may be purchased separately. See the individual catalog numbers below.

Aptima HPV Refrigerated Box (store at 2°C to 8°C upon receipt)

Symbol	Component	Quantity
A	HPV Amplification Reagent <i>Non-infectious nucleic acids dried in buffered solution containing < 5% bulking agent.</i>	1 vial
E	HPV Enzyme Reagent <i>Reverse transcriptase and RNA polymerase dried in HEPES buffered solution containing < 10% bulking reagent.</i>	1 vial
P	HPV Probe Reagent <i>Non-infectious chemiluminescent DNA probes (< 500 ng/vial) dried in succinate buffered solution containing < 5% detergent.</i>	1 vial
IC	HPV Internal Control Reagent <i>Non-infectious RNA transcript in buffered solution containing < 5% detergent.</i>	1 vial

Aptima HPV Room Temperature Box (store at room temperature, 15°C to 30°C upon receipt)

Symbol	Component	Quantity
AR	HPV Amplification Reconstitution Solution <i>Aqueous solution containing preservatives.</i>	1
ER	HPV Enzyme Reconstitution Solution <i>HEPES buffered solution containing a surfactant and glycerol.</i>	1
PR	HPV Probe Reconstitution Solution <i>Succinate buffered solution containing < 5% detergent.</i>	1
S	HPV Selection Reagent <i>600 mM borate buffered solution containing surfactant.</i>	1
TCR	HPV Target Capture Reagent <i>Buffered solution containing solid-phase and capture oligomers (< 0.5 mg/mL).</i>	1
	Reconstitution Collars	3
	Master Lot Barcode Sheet	1 sheet



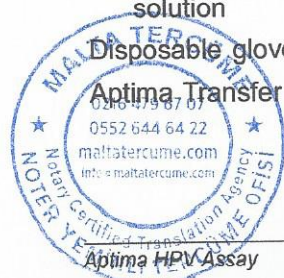
Aptima HPV Calibrators Box (Cat. No. 302554)
(store at 2°C to 8°C upon receipt)

Symbol	Component	Quantity
PCAL	HPV Positive Calibrator <i>Non-infectious HPV 16 in vitro transcript at 1000 copies per mL in a buffered solution containing < 5% detergent.</i>	5 vials
NCAL	HPV Negative Calibrator <i>Buffered solution containing < 5% detergent.</i>	5 vials

Materials Required But Available Separately

Note: Materials available from Hologic have catalog numbers listed, unless otherwise specified.

Material	Cat. No.
Panther System	303095
Panther System Continuous Fluid and Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Panther Run Kit	303096
<i>Aptima Assay Fluids Kit</i>	303014
<i>(Aptima Wash Solution, Aptima Buffer for Deactivation Fluid, and Aptima Oil Reagent)</i>	
<i>Aptima Auto Detect Kit</i>	303013
<i>Multi-tube units (MTUs)</i>	104772-02
<i>Panther Waste Bag Kit</i>	902731
<i>Panther Waste Bin Cover</i>	504405
Tips, 1000 µL filtered, conductive, liquid sensing and disposable	901121 (10612513 Tecan)
<i>Not all products are available in all regions. Contact your representative for region-specific information</i>	903031 (10612513 Tecan)
	MME-04134 (30180117 Tecan)
	MME-04128
Aptima Specimen Transfer Kit	301154C
Aptima Specimen Transfer Kit — printable	PRD-05110
Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit	302657
Aptima Penetrable Caps	105668
Replacement non-penetrable caps	103036A
Spare Caps for 250 test kits:	—
<i>Amplification Reagent and Probe Reagent reconstitution solutions</i>	CL0041
<i>Enzyme Reagent reconstitution solution</i>	501616
<i>TCR and Selection Reagent</i>	CL0040
Spare Caps for 100 test kits:	—
<i>Amplification Reagent and Probe Reagent reconstitution solutions</i>	CL0041
<i>Enzyme Reagent reconstitution solution</i>	CL0041
<i>TCR and Selection Reagent</i>	501604
Bleach 5.0% to 8.25% (0.7 M to 1.16 M) sodium hypochlorite solution	—
Disposable gloves	—
Aptima Transfer Solution Kit (for SurePath specimens only)	303658



Optional Materials

Material	Cat. No.
Bleach Enhancer for Cleaning	302101

Panther System Test Procedure

Note: See the Panther/Panther Fusion System Operator's Manual for additional Panther System procedural information.

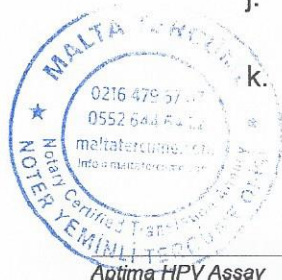
A. Work Area Preparation

Clean work surfaces where reagents and samples will be prepared. Wipe down work surfaces with 2.5% to 3.5% (0.35 M to 0.5 M) sodium hypochlorite solution. Allow the sodium hypochlorite solution to contact surfaces for at least 1 minute and then follow with a water rinse. Do not allow the sodium hypochlorite solution to dry. Cover the bench surface on which the reagents and samples will be prepared with clean, plastic-backed absorbent laboratory bench covers.

B. Reagent Preparation of a New Kit

Note: Reagent Reconstitution should be performed prior to beginning any work on the Panther System.

1. To reconstitute Amplification, Enzyme, and Probe Reagents, combine the bottles of lyophilized reagent with the reconstitution solution. If refrigerated, allow the reconstitution solutions to reach room temperature before use.
 - a. Pair each reconstitution solution with its lyophilized reagent. Ensure that the reconstitution solution and reagent have matching label colors before attaching the reconstitution collar.
 - b. Check the lot numbers on the Master Lot Barcode Sheet to ensure that the appropriate reagents are paired.
 - c. Open the lyophilized reagent vial and firmly insert the notched end of the reconstitution collar into the vial opening (Figure 1, Step 1).
 - d. Open the matching reconstitution solution, and set the cap on a clean, covered work surface.
 - e. While holding the solution bottle on the bench, firmly insert the other end of the reconstitution collar into the bottle (Figure 1, Step 2).
 - f. Slowly invert the assembled bottles. Allow the solution to drain from the bottle into the glass vial (Figure 1, Step 3).
 - g. Gently swirl the solution in the bottle to mix thoroughly. Avoid creating foam while swirling the bottle (Figure 1, Step 4).
 - h. Wait for the lyophilized reagent to go into solution, then invert the assembled bottles again, tilting at a 45° angle to minimize foaming (Figure 1, Step 5). Allow all of the liquid to drain back into the plastic bottle.
 - i. Remove the reconstitution collar and glass vial (Figure 1, Step 6).
 - j. Recap the plastic bottle. Record operator initials and the reconstitution date on all reconstituted reagent vials (Figure 1, Step 7).
 - k. Discard the reconstitution collar and vial (Figure 1, Step 8).



Warning: Avoid creating foam when reconstituting reagents. Foam compromises the level-sensing in the Panther System.

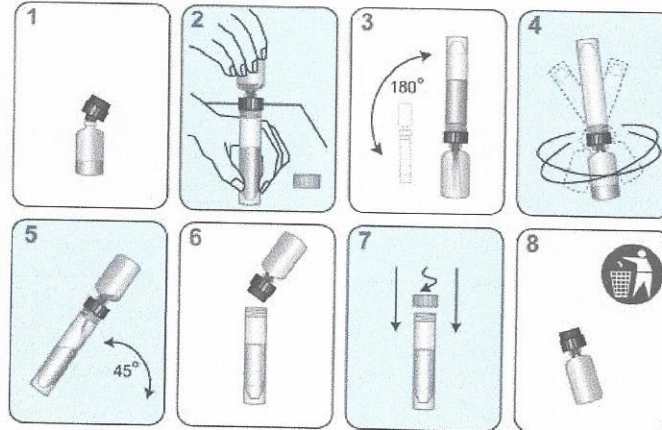


Figure 1. Panther System Reconstitution Process

2. Prepare the working Target Capture Reagent (wTCR):
 - a. Pair the appropriate bottles of TCR and IC.
 - b. Check the reagent lot numbers on the Master Lot Barcode Sheet to make sure that the appropriate reagents in the kit are paired.
 - c. Open the bottle of TCR, and set the cap on a clean, covered work surface.
 - d. Open the bottle of IC and pour the entire contents into the bottle of TCR. Expect a small amount of liquid to remain in the IC bottle.
 - e. Cap the bottle of TCR and gently swirl the solution to mix the contents. Avoid creating foam during this step.
 - f. Record operator initials and the current date on the label.
 - g. Discard the IC bottle and cap.
 - h. Precipitate may form in wTCR which may yield invalid results due to volume verification errors. Precipitate may be dissolved by warming wTCR at 42°C to 60°C for up to 90 minutes. Allow the wTCR to equilibrate to room temperature prior to use. Do not use if precipitate persists.
3. Prepare the Selection Reagent
 - a. Check the reagent lot number on the Master Lot Barcode Sheet to make sure it belongs to the kit.
 - b. If Selection Reagent contains precipitate, warm the Selection Reagent at 60°C ± 1°C for up to 45 minutes to facilitate dissolution of precipitate. Gently mix the bottle every 5 to 10 minutes. Allow the Selection Reagent to equilibrate to room temperature prior to use. Do not use if precipitate or cloudiness persists.

Note: Thoroughly mix by gently inverting all reagents prior to loading on the system. Avoid creating foam during inversion of reagents.

C. Reagent Preparation for Previously Reconstituted Reagents

1. Previously reconstituted Amplification, Enzyme, and Probe Reagents, must reach room temperature (15°C to 30°C) prior to the start of the assay.

If reconstituted Probe Reagent contains precipitate that does not return to solution at room temperature, heat at a temperature that does not exceed 60°C for 1 to 2 minutes. Do not use if precipitate or cloudiness is present.



3. If wTCR contains precipitate, warm wTCR at 42°C to 60°C for up to 90 minutes. Allow the wTCR to equilibrate to room temperature prior to use. Do not use if precipitate persists.
4. If Selection Reagent contains precipitate, warm the Selection Reagent at 60°C ± 1°C for up to 45 minutes to facilitate dissolution of precipitate. Gently mix the bottle every 5 to 10 minutes. Allow the Selection Reagent to equilibrate to room temperature prior to use. Do not use if precipitate or cloudiness persists.
5. Thoroughly mix each reagent by gently inverting prior to loading onto the system. Avoid creating foam during inversion of reagents.
6. Do not top off reagent bottles. The Panther System will recognize and reject bottles that have been topped off.

D. Sample Handling

1. Allow the samples (calibrators and specimens) to reach room temperature prior to processing.
2. **Do not vortex samples.**
3. Inspect sample tubes before loading into the rack. If a sample tube contains bubbles or has a lower volume than is typically observed, centrifuge the tube for 5 minutes at 420 RCF to ensure that there is no liquid in the cap.

Note: Failure to follow step 3 may result in liquid discharge from the specimen tube cap.

E. System Preparation

1. Set up the system according to the instructions in the *Panther System Operator's Manual* and the *Procedural Notes* section below. Make sure that the appropriately sized reagent racks and TCR adapters are used.
2. Load samples.

Procedural Notes

A. Calibrators

1. To work properly with the Aptima HPV assay software on the Panther System, three replicates of the Positive Calibrator and three replicates of the Negative Calibrator are required. One vial of each calibrator may be loaded in any rack position in any Sample Bay Lane on the Panther System. Specimen pipetting will begin when one of the following two conditions has been met:
 - a. A Positive and Negative Calibrator are currently being processed by the system.
 - b. Valid results for the calibrators are registered on the system.
2. Once the calibrator tubes have been pipetted and are being processed for a specific reagent kit, specimens can be run with the associated assay reagent kit for up to 24 hours unless:
 - a. Calibrators results are invalid.
 - b. The associated assay reagent kit is removed from the system.
 - c. The associated assay reagent kit has exceeded the stability limits.
3. Attempts to pipette more than three replicates from a calibrator tube can lead to processing errors.

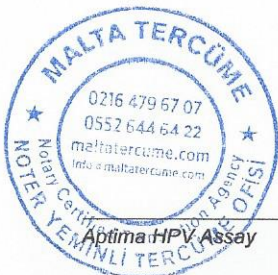
B. Temperature

Room temperature is defined as 15°C to 30°C.



C. Glove Powder

As in any reagent system, excess powder on some gloves may cause contamination of opened tubes. Powderless gloves are recommended.



Quality Control Procedures

A. Run Validity Criteria

The software automatically determines run validity. The software will invalidate a run if any of the following conditions occur:

- More than one invalid Negative Calibrator replicate.
- More than one invalid Positive Calibrator replicate.

A run may be invalidated by an operator if technical, operator, or instrument difficulties are observed and documented while performing the assay.

An invalid run must be repeated. Aborted runs must be repeated.

B. Calibrator Acceptance Criteria

The table below defines the RLU criteria for the Negative and Positive Calibrator replicates.

Negative Calibrator	
Analyte	≥ 0 and $\leq 45,000$ RLU
IC	$\geq 75,000$ and $\leq 400,000$ RLU
Positive Calibrator	
Analyte	$\geq 480,000$ and $\leq 1,850,000$ RLU
IC	$\leq 450,000$ RLU

C. IC Cutoff Calculation

The IC cutoff is determined from the IC (flasher) signal from the valid Negative Calibrator replicates.

$$IC \text{ Cutoff} = 0.5 \times [\text{mean IC RLU of the valid Negative Calibrator replicates}]$$

D. Analyte Cutoff Calculation

The analyte cutoff is determined from the analyte (glower) signal from the valid Negative Calibrator replicates as well as the analyte signal from the valid Positive Calibrator replicates

$$Analyte \text{ Cutoff} = [\text{mean analyte RLU of the valid Negative Calibrator replicates}] + [0.09 \times \text{mean analyte RLU of the valid Positive Calibrator replicates}]$$

E. Analyte Signal to Cutoff (S/CO) Calculation

The analyte S/CO is determined from the analyte RLU of the test sample and the analyte cutoff for the run.

$$Analyte \text{ S/CO} = \frac{\text{test sample analyte RLU}}{\text{analyte cutoff}}$$



Test Interpretation

Test results are automatically determined by the assay software. A test result may be negative for both HPV 16 and HPV 18/45, negative for HPV 16 and positive for HPV 18/45, positive for HPV 16 and negative for HPV 18/45, positive for both HPV 16 and HPV 18/45, or invalid as determined by the IC RLU and S/CO ratios as described in the table below. A test result may also be invalid due to other parameters (e.g., abnormal curve shape) being outside the normal expected ranges. Invalid test results should be repeated.

CSCT Kit specimens may be diluted to overcome potential inhibitory substances. Dilute 1 part of the invalid specimen into 8 parts of specimen transport media (the solution in CSCT Kit tubes); e.g. 560 µL of specimen into a new CSCT Kit tube which contains 4.5 mL of specimen transport media. Gently invert the diluted specimen to mix; avoid creating foam. Test the diluted specimen according to the standard assay procedure.

Note: Do not dilute an invalid diluted specimen. If a diluted specimen yields an invalid result, a new specimen should be obtained from the patient.

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Result	Criteria
Negative - 16 Negative - 18/45	<i>IC/HPV 16 RLU ≥ IC Cutoff and HPV 16 S/CO < 1.00 and HPV 18/45 S/CO < 1.00</i>
Negative - 16 Positive - 18/45	<i>HPV 16 S/CO < 1.00 and HPV 18/45 S/CO ≥ 1.00 and HPV 18/45 RLU ≤ 3,000,000</i>
Positive - 16 Negative - 18/45	<i>HPV 16 S/CO ≥ 1.00 and IC/HPV 16 RLU ≤ 4,000,000 and HPV 18/45 S/CO < 1.00</i>
Positive - 16 Positive - 18/45	<i>HPV 16 S/CO ≥ 1.00 and IC/HPV 16 RLU ≤ 4,000,000 and HPV 18/45 S/CO ≥ 1.00 and HPV 18/45 RLU ≤ 3,000,000</i>
Invalid	<i>HPV 16 S/CO < 1.00 and HPV 18/45 S/CO < 1.00 and IC/HPV 16 RLU < IC cutoff or IC/HPV 16 RLU > 4,000,000 or HPV 18/45 RLU > 3,000,000</i>