

High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD

Kit de PCR en temps réel multiplex pour les HPV à haut risque, IVD

REF MD04921, 96 réactions

Pour un usage professionnel de diagnostic in vitro uniquement



FR

Mode d'emploi

MD0492_IM_fr

VERSION 2401, Janvier 2024



Sommaire

1. Introduction	3
2. Utilisation prévue.....	3
3. Principes du test.....	3
4. Composition du kit.....	4
5. Conditions de stockage, de stabilité et de manipulation.....	4
6. Matériel et instrumentation requis mais non fournis	4
7. Prélèvement et préparation des échantillons	4
8. Précautions et avertissements.....	4
8.1. Information de sécurité	5
8.2. Exigences de manipulation et de procédure	5
9. Procédure de test.....	5
9.1. Mise en place de la réaction	5
9.2. Programmation de l'équipement de PCR en temps réel	6
10. Analyse des données.....	6
10.1. Exécuter les critères de validation	6
10.2. Interprétation des résultats des test	6
11. Évaluation des performance	8
11.1. Résultats attendus	8
11.2. Limite de détection (LoD) - Sensibilité analytique	8
11.3. Spécificité analytique	8
11.3.1. Réactivité croisée (exclusion) et spécificité	8
11.3.2. Substances interférentes	9
11.4. Précision.....	9
11.4.1. Répétabilité.....	11
11.4.2. Reproductibilité quotidienne	11
11.4.3. Reproductibilité lot à lot	11
11.4.4. Reproductibilité par opérateur	11
11.4.5. Reproductibilité entre des instruments.....	11
11.5. Évaluation clinique	11
12. Contrôle de qualité	12
13. Soutien technique	12
14. Marques déposées et clauses de non-responsabilité.....	12
15. Explication des symboles	12
16. Déclaration de conformité.....	13
17. Références	14

1. Introduction

Les papillomavirus constituent un groupe diversifié de virus à ADN ayant la capacité d'infecter à la fois la peau et les muqueuses des humains et des animaux. Le virus du papillome humain (HPV) est particulièrement significatif, étant impliqué dans plus de 99% des cancers du col de l'utérus dans le monde. Bien que plus de 200 types distincts de HPV aient été répertoriés, au moins 14 ont été classés comme à haut risque (HPV-HR) en raison de leur association avec l'initiation de lésions muqueuses pouvant évoluer vers le cancer du col de l'utérus et d'autres complications¹. Le cancer du col de l'utérus, classé comme la deuxième tumeur maligne la plus fréquente chez les femmes, souligne la gravité des problèmes de santé liés au HPV à l'échelle mondiale. Au-delà de son potentiel oncogène, le HPV détient la triste distinction d'être l'infection sexuellement transmissible la plus répandue à l'échelle mondiale².

Les HPV-HR comprennent les types 16 et 18, responsables d'environ 70% des lésions cancéreuses les plus graves³. Des types supplémentaires à haut risque, tels que HPV31, HPV33, HPV35, HPV39, HPV45, HPV51, HPV52, HPV56, HPV58, HPV59, HPV66 et HPV68, contribuent collectivement à plus de 90% des adénocarcinomes du col de l'utérus⁴. La progression vers la malignité est fréquemment liée à l'intégration de l'ADN viral dans le génome de la cellule hôte, soulignant l'interaction complexe entre les facteurs viraux et la biologie de l'hôte. Notamment, la co-infection par des sous-types de HPV-HR s'est révélée être un facteur de risque discernable pour une incidence élevée de la maladie⁵.

Aujourd'hui, le dépistage ou le diagnostic du HPV-HR implique principalement des techniques cytologiques qui ont moins de spécificité et de sensibilité que les techniques moléculaires⁶. La cytologie cervico-vaginale ou la cytologie liquide sont compétentes pour détecter des lésions précancéreuses et indiquer le cancer du col de l'utérus après une infection par le HPV⁷. Cependant, bien qu'efficaces pour identifier les lésions précancéreuses et indiquer la présence du cancer du col de l'utérus après une infection par le HPV, ces méthodes présentent des limites pour distinguer entre différents types de virus, en particulier divers types de HPV-HR. Une avancée significative dans la précision du diagnostic est évidente avec les tests de PCR en temps réel, offrant une méthodologie rapide et puissante pour la détection efficace de différents types de HPV-HR⁸.

2. Utilisation prévue

Le kit High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD, de NZYtech, est un test moléculaire conçu pour la détection qualitative rapide de l'ADN viral du virus du papillome humain (HPV) à haut risque dans des échantillons biologiques humains obtenus par cytologie cervicale par un clinicien. Le test effectue une amplification multiplexée de l'ADN cible via la réaction de polymérisation en chaîne en temps réel (PCR) pour 14 types de HPV-HR dans une seule réaction. Le kit identifie spécifiquement les HPV16 et HPV18 dans deux canaux de détection distincts et rapporte les 12 autres types à haut risque (HPV31, HPV33, HPV35, HPV39, HPV45, HPV51, HPV52, HPV56, HPV58, HPV59, HPV66 et HPV68) dans un résultat global détecté dans le même canal. Le but de ce test est d'évaluer la présence ou l'absence des 14 types de HPV-HR. Ces informations, combinées à l'évaluation médicale de l'historique médical du patient, à d'autres facteurs de risque et au respect des directives professionnelles, peuvent être utilisées pour orienter les soins du patient. Le kit est destiné à être utilisé par un personnel de laboratoire formé, spécifiquement instruit dans les techniques de PCR en temps réel et les diagnostics *in vitro*. Le kit doit être utilisé uniquement comme indiqué dans ce manuel d'utilisation.

3. Principes du test

Le High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD, de NZYtech, comprend un ensemble complet de réactifs, d'enzymes et d'oligonucléotides (amorces et sondes) pour la détection qualitative des HPV à haut risque en utilisant des plates-formes courantes de PCR en temps réel (voir la section 6 pour les spécifications d'instruments requises). Ce kit permet l'identification de divers types de génomes de HPV à haut risque : HPV16, HPV39 et HPV68 par l'amplification de cibles situées dans le gène E6 ; HPV18 par l'amplification d'une cible dans le gène E1 ; HPV31 par l'amplification d'une cible située dans le gène E5 ; HPV33, HPV35, HPV52 et HPV58 en amplifiant des cibles dans le gène E7, et enfin, HPV45, HPV51, HPV56, HPV59 et HPV66 par l'amplification de cibles situées dans le gène L1.

Le High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD, de NZYtech, est méticuleusement conçu pour offrir le profil de détection le plus large possible tout en maintenant la spécificité pour les 14 génomes de HPV à haut risque mentionnés ci-dessus. Le kit fournit un ensemble complet de réactifs pour la détection des 14 génomes viraux, ciblant des régions hautement conservées des types de HPV à haut risque grâce à des amorces et des sondes hautement optimisées. De plus, il inclut un contrôle interne efficace pour la détection du gène de l'actine bêta humaine (ACTB) à l'aide d'un ensemble spécifique d'amorces et de sondes, afin de confirmer le succès de l'extraction de l'ADN de l'échantillon et l'absence d'inhibiteurs de PCR. Les oligonucléotides sont spécifiquement conçus pour la détection du HPV et ne présentent pas une homologie significative avec d'autres génomes, ce qui reflète la haute spécificité et la sensibilité de détection du test. Cette conception assure la haute spécificité et la sensibilité de détection du test, évitant la détection d'autres organismes causant des infections similaires. L'évolution naturelle du virus détecté par ce kit implique que de nouvelles informations séquentielles seront disponibles avec le temps, ce qui reflète des stratégies d'adaptation virale bien connues. Ainsi, NZYtech revisite périodiquement les cibles génomiques virales et, si nécessaire, publiera de nouvelles versions de ce kit.

Le High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD, utilise la technique de PCR en temps réel pour la détermination qualitative de l'ADN, une norme en or dans le diagnostic moléculaire en laboratoire. Cette méthodologie hautement sensible et spécifique assure la détection précise de différents types de HPV à haut risque. Le principe du High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD, consiste en l'utilisation d'ADN isolé et purifié par le biais d'un système d'extraction pour rechercher la présence d'ADN viral. L'ADN extrait subit une amplification multiplexe par PCR en une seule réaction, utilisant des ensembles d'amorces et de sondes hautement spécifiques basés sur le principe TaqMan[®]. Pendant l'amplification, les sondes se lient sélectivement à leurs gènes cibles, et à mesure que l'ADN amplifie, la dégradation de ces sondes, flanquées de deux amorces, entraîne la séparation du colorant rapporteur du quencher, augmentant la fluorescence. Pour identifier l'amplification des 15 cibles spécifiques en une seule réaction - HPV16, HPV18, douze HR HPV (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68), et l'ACTB humaine - les sondes spécifiques sont marquées avec différents fluorophores, à savoir Texas Red[®], Cy5[™], FAM[™], et HEX[™]. De plus, les ensembles d'amorces/sondes sont fournis à des concentrations optimisées garantissant que l'amplification des acides nucléiques moins abondants n'est pas compromise lorsque d'autres cibles virales sont présentes à des concentrations plus élevées. Cette conception méticuleuse garantit la fiabilité et la précision du kit dans la détection des 14 génomes spécifiés de HPV à haut risque.

4. Composition du kit

Le High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD, de NZYtech, fournit un ensemble complet de réactifs suffisants pour effectuer 96 réactions de PCR en temps réel en une seule étape.

COMPOSANTS DU KIT		VOLUME (PAR FLACON)	NOMBRE DE TUBES	COULEUR DU COUVERCLE
HPV MMix	NZYSupreme Multiplex qPCR Probe Master Mix (2x)	1050 µL	1	Neutre
HPV PPMix	Mélange d'amorce et de sonde HPV HR/ACTB (10x)	205 µL	1	Brun
HPV POS	Témoin positif HPV HR/ACTB	105 µL	1	Rouge
NTC	Témoin sans modèle	105 µL	1	Neutre

5. Conditions de stockage, de stabilité et de manipulation

Le High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD, de NZYtech, est expédié réfrigéré. Dès la réception du kit, tous les composants doivent être immédiatement stockés entre -85 °C et -15 °C. Lors de l'utilisation, les composants du kit doivent être rapidement placés dans le congélateur après utilisation afin de minimiser le temps d'exposition à la température ambiante. En outre:

- Minimiser le nombre de cycles de congélation-décongélation en stockant des aliquotes de travail. Le cas échéant, les composants du kit peuvent être aliquotés en plus petits volumes après décongélation. Le kit est stable pendant un minimum de 10 cycles de congélation-décongélation.
- Le composant HPV PPMix doit être conservé à l'abri de la lumière. En particulier, ne pas exposer HPV MMix à la lumière directe du soleil après l'avoir combiné avec HPV PPMix.
- Si l'emballage qui protège le kit arrive endommagé, veuillez contacter NZYtech.
- Attention à la date de péremption indiquée sur l'emballage. NZYtech ne recommande pas d'utiliser le kit après la date de péremption. À cette date, le kit doit être jeté conformément aux instructions d'élimination de la **Section 8.2**.

6. Matériel et instrumentation requis mais non fournis

- Un équipement PCR en temps réel qui détecte les canaux de fluorescence FAM™, HEX™/VIC™/JOE™, Texas Red™/JUN™ et Cy5™ (à des longueurs d'émission de 520, 556, 615 et 670 nm, respectivement). Voir à la section 11 les modèles d'équipements pour lesquels le kit a été validé.
- Équipement et consommables pour isoler l'ADN d'échantillons biologiques/cliniques.
- Matériel en plastique pour qPCR sans RNase/DNase : Tubes PCR, barrettes, bouchons, plaques de 96 puits, films adhésifs.
- Pipettes et pointes à filtre (sans RNase/DNase).
- Bloc de refroidissement.
- Gants jetables.
- Vortex et centrifugeuse.

7. Prélèvement et préparation des échantillons

Le High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD, de NZYtech, est conçu pour détecter l'ADN extrait d'échantillons cervicaux (solution à base liquide pour cytologie). Plusieurs facteurs, dont la procédure de prélèvement de l'échantillon biologique, le transport, le stockage et le temps de traitement de l'échantillon, sont d'une importance capitale pour garantir l'intégrité de l'échantillon et obtenir des résultats optimaux. Pour un prélèvement efficace, il est recommandé d'obtenir des échantillons à l'aide d'un écouvillon/endocol. Ces échantillons doivent être resuspendus dans la solution PreservCyt® (Hologic Corp.) ou dans un milieu Amies. Ensuite, les spécimens doivent être soigneusement scellés dans des tubes ou des récipients appropriés, étiquetés avec précision, puis transportés rapidement au laboratoire. Il est conseillé de tester les échantillons collectés dès que possible pour maintenir la précision des résultats. Ne pas respecter les procédures appropriées de prélèvement, de manipulation et/ou de transport des échantillons peut entraîner des résultats inappropriés. Les acides nucléiques extraits constituent le matériau de départ pour l'analyse avec le High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD. NZYtech recommande l'utilisation du kit de purification d'acide nucléique basé sur la technologie des billes magnétiques : NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD (MD0488, NZYtech). Ce kit a été validé pour l'extraction d'échantillons cliniques d'HPV et la détection ultérieure à l'aide du High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD, de NZYtech. Assurez-vous que les contaminations croisées n'ont pas eu lieu et que les échantillons d'ADN sont adaptés en termes de pureté, de concentration, et d'intégrité des acides nucléiques. Le kit de NZYtech contient un témoin interne qui cible l'ADN humain co-purifié avec l'ADN viral de l'HPV. L'ADN humain est amplifié avec l'ensemble d'oligonucléotides (amorces et sonde) du gène β -actine humain. L'introduction d'un témoin interne est utile pour évaluer l'efficacité de l'extraction et de l'isolement de l'ADN et/ou pour détecter la présence d'inhibiteurs potentiels pendant le traitement des échantillons.

8. Précautions et avertissements

Suivez attentivement les procédures et les directives fournies dans ce manuel pour vous assurer que le test est effectué correctement. Avant d'utiliser le test, vérifiez l'intégrité du produit, notamment la quantité et le type de composants du kit ainsi que leur étiquetage correct. Comme pour toute procédure de test analytique, de bonnes pratiques de laboratoire sont essentielles. Tout écart par rapport à ces bonnes pratiques peut entraîner un échec du test ou produire des résultats erronés. En raison de la sensibilité élevée du kit, des précautions particulières doivent être prises pour maintenir les réactifs et les mélanges d'amplification PCR exempts de contamination.

8.1. Information de sécurité

Avant d'utiliser le kit, veuillez consulter la fiche de données de sécurité (FDS) disponible sur le site Web de NZYtech (www.nzytech.com). La détection à l'aide de ce kit doit être effectuée exclusivement par du personnel formé aux procédures techniques et de sécurité pertinentes, dans des laboratoires équipés de manière appropriée. Les directives internationales et nationales sur la sécurité biologique en laboratoire doivent être suivies en toutes circonstances.

8.2. Exigences de manipulation et de procédure

- Uniquement pour un usage professionnel de diagnostic *in vitro*.
- Ne pas utiliser ce kit après la date de péremption.
- Ne pas utiliser les composants du test si le scellage du kit est endommagé.
- Ne pas intervertir les réactifs de différents lots de production.
- Aucun réactif d'autres fabricants ne doit être utilisé avec les réactifs de ce kit.
- Des ustensiles en plastique jetables et des pipettes sans DNase/RNase doivent être utilisés lors de toutes les procédures.
- La préparation des échantillons, la mise en place de la réaction et l'amplification doivent être effectuées dans différentes zones de travail. L'ordre des tâches dans le laboratoire doit être unidirectionnel. Portez toujours des gants jetables dans chaque zone et changez-les avant d'entrer dans une zone différente. Si possible, changez de manteau.
- Sélectionnez des matériaux et des équipements spécifiques pour chaque zone de travail individuelle et ne les transférez pas d'une zone à une autre.
- Utilisez toujours le NTC – Témoin sans modèle fourni avec le kit.
- Les échantillons biologiques doivent être manipulés comme s'ils étaient infectieux et en suivant les précautions de biosécurité appropriées.
- Les témoins positifs contiennent des modèles à grand nombre de copies; ils doivent être ouverts et traités à l'écart des échantillons de test et des composants du kit pour éviter toute contamination croisée.
- Manipulez les plaques post-amplification avec soin et jetez-les immédiatement après la fin du test ; les plaques doivent toujours être jetées dans un récipient approprié pour les risques biologiques après utilisation. Ne pas ouvrir les tubes/plaques de réaction post-amplification pour éviter la contamination des amplicons.
- À la fin de chaque test, nettoyez les surfaces de travail et l'équipement avec un dissolvant d'ADN/ARN.
- Les résidus de produits chimiques et de préparations sont généralement considérés comme des déchets dangereux. L'élimination de ce type de déchets est réglementée par des lois et réglementations nationales et régionales.
- Tous les résultats doivent être interprétés par un professionnel de la santé dans le contexte des antécédents médicaux et des symptômes cliniques du patient.
- Ce test ne peut pas exclure les maladies causées par d'autres agents pathogènes.
- Un résultat négatif pour tout test PCR n'exclut pas de manière concluante la possibilité d'une infection.
- Suivez les bonnes pratiques de laboratoire, portez des vêtements de protection, portez en permanence des gants jetables non poudrés et utilisez des lunettes et un masque. Ne pas manger, boire ou fumer dans la zone de travail.

9. Procédure de test

Veuillez lire attentivement les instructions d'utilisation avant d'effectuer le test. Soyez conscient que toutes les étapes de pipetage et la configuration de la plaque expérimentale doivent être effectuées conformément aux bonnes pratiques de PCR en temps réel. Dès que la plaque est préparée, commencez immédiatement le protocole PCR en temps réel. Une incubation prolongée des mélanges réactionnels à température ambiante peut entraîner des artefacts de PCR qui réduisent la sensibilité de détection. Avant l'expérience, commencez par mélanger délicatement avec le doigt les tubes réactionnels fournis et centrifugez pendant cinq secondes pour recueillir le contenu au fond du tube. Placez les tubes sur de la glace. **Nous recommandons fortement de pipeter HPV POS en dernier pour éviter les contaminations croisées.**

9.1. Mise en place de la réaction

1. Préparez un mélange qPCR suffisant pour le nombre de tests à effectuer avec un volume supplémentaire de 5% pour les pertes de pipetage. Procéder selon le tableau ci-dessous qui précise les volumes pour les tests 1 et n (où n correspond au nombre total de réactions):

COMPOSANT	1 VOLUME DE TEST (µL)	n TESTS * VOLUME + 5% (µL)
HPV MMix **	10	n x 10,5
HPV PPMix	2	n x 2,1
VOLUME FINAL	12	n x 12,6

* Pour calculer le nombre total de réactions nécessaires pour chaque test, comptez le nombre d'échantillons et ajoutez-en trois de plus, pour inclure le témoin négatif et le témoin positif.

** Veuillez noter qu'un précipité au fond du tube de mélange maître peut être observé, en particulier après plusieurs cycles de congélation/décongélation. Pour garantir des performances idéales, veuillez-vous assurer que tous les composants sont décongelés et remis en suspension avant utilisation. Dans ce cas, ne faites pas tourner le master mix avant le pipetage.

2. Pipettez 12 µL du mélange qPCR dans des puits individuels en fonction de la configuration de votre plaque expérimentale PCR en temps réel.
3. Pour le témoin négatif, ajoutez 8 µL de NTC au lieu de la matrice d'ADN dans le puits de témoin négatif. Le volume final doit être de 20 µL.
4. Pour les échantillons biologiques, ajoutez 8 µL de chaque échantillon d'ADN dans les puits d'échantillon, selon la configuration de votre plaque expérimentale. Le volume final dans chaque puits doit être de 20 µL.
5. Pour le témoin positif, ajoutez 8 µL de HPV HR/ACTB POS au lieu de la matrice d'ADN dans les puits de témoin positif. Le volume final doit être de 20 µL.
6. Couvrir et sceller la plaque avec un film adhésif optique ou des bouchons appropriés avant de procéder aux étapes de qPCR et de détection.

7. Placez la plaque de réaction dans l'équipement PCR en temps réel et exécutez le protocole qPCR selon la section ci-dessous.

9.2. Programmation de l'équipement de PCR en temps réel

Le tableau ci-dessous présente un protocole standard optimisé sur quelques plates-formes de PCR en temps réel. Cependant, ces conditions peuvent être adaptées et validées pour correspondre à différents protocoles spécifiques à chaque machine.

Paramètres de la PCR en temps réel

CYCLES	TEMPÉRATURE	TEMPS	ÉTAPE
1	95 °C	3 min	Activation de la polymérase
45	95 °C	5 s	Dénaturation
	60 °C	30 s	Hybridation/Elongation*

* Selon l'équipement de qPCR, sélectionnez les canaux de détection appropriés. Les données fluorogènes doivent être collectées pendant cette étape à travers les canaux indiqués ci-dessous.

Colorants fluorescents et canaux de détection

CIBLES	COLORANT FLUORESCENT	CANAL DE DÉTECTION
HPV16	Texas Red®	Texas Red/JUN
HPV18	Cy5™	Cy5
Autres HR HPV	FAM™	FAM
ACTB	HEX™	VIC/HEX or JOE

Le High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD a été validé pour les systèmes de PCR en temps réel suivants: Applied Biosystems® 7500 FAST, Applied Biosystems® QuantStudio 5, Applied Biosystems® QuantStudio 5 Dx, Bio-Rad® CFX C1000 Touch and Bio-Rad® CFX Opus. Si un autre équipement est utilisé, l'utilisateur doit valider le kit à l'aide d'échantillons préalablement caractérisés (positifs et négatifs).

10. Analyse des données

10.1. Exécuter les critères de validation

L'analyse des données est effectuée par le logiciel de l'instrument. En tenant compte des différences de performance entre différents instruments de PCR en temps réel, les seuils pour les quatre signaux de fluorescence (Texas Red, FAM, VIC et Cy5) sont déterminés automatiquement par le logiciel avec des ajustements manuels si nécessaire. Avant d'analyser les résultats des échantillons, nous vous recommandons de vérifier si le test PCR en temps réel est valide. Ainsi, pour chaque plaque, veuillez confirmer si les résultats des témoins positifs et négatifs se sont déroulés comme prévu, selon les critères suivants:

Témoin positif (HPV POS): l'amplification des courbes Texas Red (HPV16), Cy5 (HPV18), FAM (autres HPV-HR) et VIC (ACTB) est positive. Le témoin positif devrait s'amplifier à Ct < 32, dans les quatre canaux. Le non-respect de ce critère de contrôle de qualité est une forte indication que l'expérience a été compromise.

Témoin négatif (NTC): aucune amplification n'est détectée. Si le témoin négatif présente des courbes d'amplification (Texas Red, Cy5, FAM et VIC) avec une forme sigmoïdale, une contamination de l'échantillon peut s'être produite. Répétez le test en suivant les bonnes pratiques de qPCR.

Si les témoins sont conformes aux attentes, le test est **valide**. Veuillez procéder à l'interprétation des résultats pour les échantillons testés.

Si l'un des témoins ne présente pas les performances attendues, le test a été compromis ou exécuté de manière incorrecte et doit être considéré comme **non valide**.

10.2. Interprétation des résultats des test

Le High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD, de NZYtech utilise les valeurs seuils Ct suivantes pour l'interprétation des résultats:

VALEUR CT	RESULTS INTERPRETATION
Amplification Ct ≤37	Détecté (+) → POSITIF
Pas d'amplification Ct>37	Non-détecté (-) → NÉGATIF

Le **HPV16 est détecté** si la courbe d'amplification en Texas Red présente une forme sigmoïdale avec un Ct≤36, indépendamment du résultat obtenu pour le test ACTB (VIC).

Le **HPV18 est détecté** si la courbe d'amplification en Cy5 présente une forme sigmoïdale avec un Ct≤36, indépendamment du résultat obtenu pour le test ACTB (VIC).

Les autres HPV à haut risque sont détectés si la courbe d'amplification en FAM présente une forme sigmoïdale avec un Ct≤36, indépendamment du résultat obtenu pour le test ACTB (VIC).

Le HPV16, le HPV18, et les autres HPV à haut risque ne sont pas détectés si les courbes en Texas Red, Cy5 et FAM n'amplifient pas ou amplifient à Ct>36, tandis que le test ACTB (VIC) présente une courbe sigmoïdale positive (Ct≤45).

Le test est considéré comme invalide si les tests HPV16, HPV18, les autres HPV à haut risque et ACTB sont négatifs. Le test doit être répété avec des acides nucléiques repurifiés à partir de l'échantillon.

Le tableau suivant résume l'interprétation des résultats principaux. Évaluez la forme globale des courbes d'amplification ; seules les courbes d'amplification sigmoïdales sont indicatives d'une véritable amplification.

HPV16 (TEXAS RED/JUN)	HPV18 (CY5)	AUTRES HR HPV (FAM)	ACTB (VIC/HEX/JOE)	INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS
+	-	-	+/-*	HPV16 détecté → POSITIF
-	+	-	+/-*	HPV18 détecté → POSITIF
-	-	+	+/-*	Autres HPV-HR détecté → POSITIF (toute combinaison ou 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68)
+	+	-	+/-*	HPV16 et HPV18 détecté → POSITIF
+	-	+	+/-*	HPV16 et Autres HPV-HR détecté → POSITIF (16 plus toute combinaison ou 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68)
-	+	+	+/-*	HPV18 et Autres HPV-HR détecté → POSITIF (18 plus toute combinaison ou 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68)
+	+	+	+/-*	Autre HPV-HR détecté → POSITIF (16, 18, et toute combinaison ou 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68)
-	-	-	+	Autre HPV-HR non détecté → NÉGATIF (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68)
-	-	-	-	Test Invalid

* La détection du témoin interne sur le canal VIC n'est pas nécessaire pour les résultats positifs sur les canaux de détection Texas Red, Cy5 ou FAM. Une concentration/charge élevée d'ADN détectable dans l'échantillon peut entraîner un signal de contrôle interne réduit ou absent.

Note: L'interprétation des résultats doit tenir compte de la possibilité de résultats faussement négatifs et faussement positifs.

- Les résultats faussement négatifs peuvent être causés par:
 - La collecte, la manipulation et/ou le stockage inappropriés des échantillons.
 - La dégradation de l'échantillon.
 - La présence d'inhibiteurs de qPCR.
 - Des mutations dans le génome des virus.
 - Le non-respect des procédures de ce manuel.
 - L'utilisation de trousse de réception ou de plaques-formes de qPCR non validées.
- Les résultats faussement positifs peuvent être causés par:
 - La manipulation inappropriée d'échantillons contenant des concentrations élevées d'ADN de HPV-HR. En raison de la susceptibilité élevée de la méthode qPCR aux contaminations croisées, des précautions particulières doivent être prises lors de l'isolement de l'ADN.
 - La contamination croisée avec le témoin positif en raison d'une manipulation inappropriée.
 - La manipulation inappropriée du produit amplifié (plaque post-amplification).
 - Les résultats négatifs n'excluent pas une infection, et le résultat du test ne doit pas être utilisé comme unique base pour des décisions de traitement ou d'autres décisions de prise en charge du patient. De plus, ce test ne peut pas exclure les maladies causées par d'autres agents pathogènes

Les résultats négatifs n'excluent pas une infection, et le résultat du test ne doit pas être utilisé comme unique base pour des décisions de traitement ou d'autres décisions de prise en charge du patient. De plus, ce test ne peut pas exclure les maladies causées par d'autres agents pathogènes.

11. Évaluation des performances

Les performances de ce kit ont été validées pour les équipements spécifiés dans la section 9.2 (voir ci-dessus). Si un autre équipement est utilisé, l'utilisateur doit valider le kit à l'aide d'échantillons préalablement caractérisés (positifs et négatifs).

11.1. Résultats attendus

Des graphiques d'amplification typiques, observés pour un échantillon de prélèvement cervical clinique négatif pour le HPV (Figure 1A) et d'un échantillon de prélèvement cervical d'un patient infecté par des HPV à haut risque (Figure 1B), sont présentés dans la Figure 1.

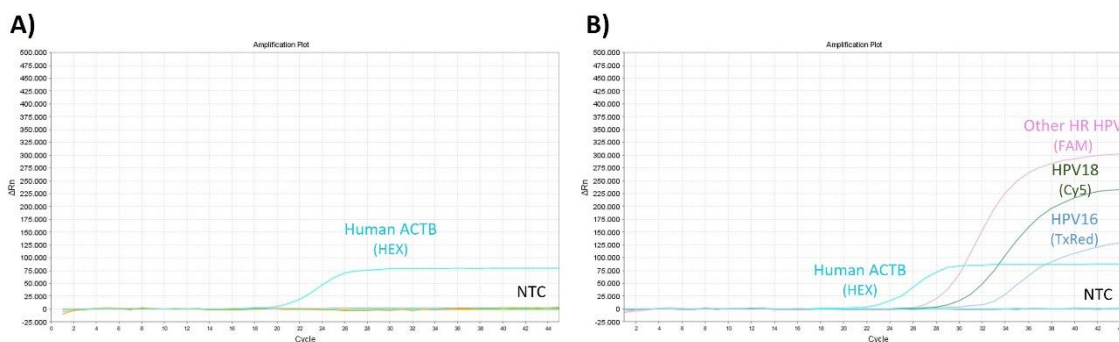


Figure 1. Courbes de fluorescence représentatives des HPV à haut risque générées par le High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD, dans un spécimen de prélèvement cervical clinique négatif pour le HPV (Figure 1A) et un échantillon de prélèvement cervical d'un patient identifié comme porteur de HPV à haut risque (Figure 1B). Courbe bleue : détection de l'ADN porteur de la cible HPV16 via le canal Texas Red ; Courbe verte : détection de l'ADN porteur de la cible HPV18 via le canal Cy5 ; Courbe rose : détection de l'ADN porteur des autres cibles HPV à haut risque via le canal FAM ; Courbe bleu clair : détection de l'ADN porteur de la cible ACTB humaine via le canal VIC.

11.2. Limite de détection (LoD) - Sensibilité analytique

La sensibilité analytique a été définie comme la plus faible concentration d'analyte pouvant être détectée de manière fiable avec une confiance de 95%. Cela a été évalué en testant les acides nucléiques du HPV à différents nombres de copies, notamment le HPV16, le HPV31, le HPV33, le HPV35, le HPV39, le HPV45, le HPV51, le HPV52, le HPV56, le HPV58, le HPV59, le HPV66 et le HPV68, ajoutés à l'ADN extrait de prélèvements cervicaux négatifs, en utilisant trois lots différents de kits selon les conditions standard de réaction. Les tests ont été répétés sur 4 jours, et la LoD putative a été déterminée. La confirmation de la LoD a été réalisée par deux opérateurs différents, en utilisant trois lots de kits dans une expérience avec un total de 48 répétitions. Les données ont révélé que le High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD, de NZYtech, détecte la LoD suivante pour chaque type de HPV à haut risque, avec une confiance $\geq 95\%$. Toutes les analyses ont été effectuées à l'aide de l'équipement de PCR en temps réel Applied Biosystems® 7500 FAST, et l'analyse a été effectuée à l'aide du logiciel de l'équipement.

TYPE DE HPV	CONCENTRATION (COPIES/RX)	CONCENTRATION (COPIES/ML)	TESTS POSITIFS	% POSITIFS	INTERVALLE DE CONFIDENCE À 95%	
					INFÉRIEUR	SUPÉRIEUR
HPV16	15	750	47/48	97,9%	89,1%	99,6%
HPV18	15	750	47/48	97,9%	89,1%	99,6%
HPV31	7,5	375	47/48	97,9%	89,1%	99,6%
HPV33	50	2500	48/48	100,0%	92,6%	100,0%
HPV35	10	500	46/48	95,8%	86,0%	98,8%
HPV39	7,5	375	47/48	97,9%	89,1%	99,6%
HPV45	30	1500	46/48	95,8%	86,0%	98,8%
HPV51	25	1250	48/48	100,0%	92,6%	100,0%
HPV52	20	1000	48/48	100,0%	92,6%	100,0%
HPV56	15	750	48/48	100,0%	92,6%	100,0%
HPV58	10	500	47/48	97,9%	89,1%	99,6%
HPV59	40	2000	46/48	95,8%	86,0%	98,8%
HPV66	30	1500	47/48	97,9%	89,1%	99,6%
HPV68	20	1000	46/48	95,8%	86,0%	98,8%

11.3. Spécificité analytique

11.3.1. Réactivité croisée (exclusion) et spécificité

La réactivité croisée et l'inclusivité ont été évaluées par une analyse *in silico* des sondes oligonucléotidiques et des amorces incluses dans le kit High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD par rapport aux agents pathogènes liés au papillomavirus humain. Les agents pathogènes colonisateurs humains couramment rencontrés dans les échantillons cliniques ont également été analysés. Les amorces et sondes de l'essai ont été criblées contre des séquences génomiques publiées. L'analyse *in silico* a révélé que la conception de l'essai était capable de détecter les quatorze HPV à haut risque (HPV16, HPV18, HPV31, HPV33, HPV35, HPV39, HPV45, HPV51, HPV52, HPV56, HPV58, HPV59, HPV66 et HPV68) et ne présentait aucune réactivité avec des espèces non apparentées.

En plus de l'analyse *in silico*, un panel de bactéries, de champignons et de virus, y compris ceux couramment trouvés dans le tractus urogénital féminin, ainsi que certains types de HPV classés comme à faible risque, ont été testés avec le kit High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD. La réactivité croisée du kit High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD a été évaluée en utilisant les agents pathogènes suivants : *Bifidobacterium breve*, *Proteus mirabilis*, *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus avium*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Fusobacterium nucleatum*, *Klebsiella oxytoca*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus mirabilis*, *Neisseria meningitidis*, *Corynebacterium genitalium* et *Bacteroides fragilis*. Les essais ont été réalisés en utilisant l'ADN génomique des organismes mentionnés ci-dessus. De plus, des tests humides ont été effectués à l'aide de sept échantillons inactifs représentatifs d'échantillons humains cliniques, notamment *Candida albicans* (souche Z006), *Gardnerella vaginalis* (souche Z247), *Atopobium vaginae* (souche Z242), *Trichomonas vaginalis* (souche Z070), *Candida glabrata* (souche Z007), *Lactobacillus crispatus* (souche Z246) et *Candida krusei* (souche Z009). De plus, des échantillons cliniques de HPV à faible risque (HPV6/11, HPV40, HPV42, HPV43, HPV44, HPV53, HPV54, HPV53/73 et HPV82) ont également été testés avec le kit High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD. Tous les tests ont été effectués en triplicata en utilisant trois lots de kits. Les données ont confirmé qu'aucun des micro-organismes testés n'a généré de signal d'amplification.

11.3.2. Substances interférentes

Le sang, les antimicrobiens, les crèmes antifongiques, les produits de lavage ou les hydratants ont été évalués pour leur potentiel d'interférence avec le kit High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD. Les essais ont été réalisés à l'aide de spécimens cervicaux négatifs (stockés dans une solution ThinPrep PreservCyt®) enrichis en spécimens positifs pour HPV16 et HPV18 à ~2-3x la limite de détection (LoD). Les substances interférentes potentielles ont été ajoutées aux échantillons fabriqués à des concentrations représentant les niveaux les plus élevés attendus dans les échantillons cervicaux humains, sur la base de données de la littérature. Toutes les extractions/tests ont été effectués en double avec un lot de kit et comparés aux données obtenues avec un test témoin ne contenant pas d'interférents. Aux concentrations testées, les résultats ont révélé qu'aucune des molécules testées n'affectait la sensibilité du kit. Néanmoins, la solution vaginale BETADINE® pourrait causer une interférence si elle est utilisée à des concentrations supérieures à 0,04% v/v. Le tableau ci-dessous résume les données collectées lors de ces expériences.

INTERFERENT POTENTIEL	INGRÉDIENT ACTIF	CONCENTRATION FINALE DANS L'ÉCHANTILLON	INTERFÉRENCE		
			HPV16	HPV18	OTHER HR HPV5
Anidulafungin (antifongique)	Anidulafungin	10% v/v	N	N	N
Flucytosine (antifongique)	Flucytosine	10% v/v	N	N	N
Voriconazole (antifongique)	Voriconazole	10% v/v	N	N	N
Amphotericin B (antifongique)	Amphotericin B deoxycholate	10% v/v	N	N	N
Gino-Canesten® (antifongique)	Clotrimazole (10 mg/ml)	10% p/v	N	N	N
Lomexin® (antimicrobien)	Nitrate de fenticonazole	10% p/v	N	N	N
Progeffik® (Médicament)	Progestérone (5 mg/mL)	10% v/v	N	N	N
BETADINE® Vaginale (Produit de lavage)	Povidone iodée (100 mg/mL)	0,04% v/v	N*	N*	N*
Produit de lavage	Cocoate de glycéryle PEG-7, Propylène Glycol	10% v/v	N	N	N
Produit de lavage	Acide lactique	10% v/v	N	N	N
Lubrifiant Cherry Warm Up	Hydroxyéthylcellulose, Gluconate de chlorhexidine	10% p/v	N	N	N
ClimaCare (Produit topique)	Acide hyaluronique, Acide lactique	10% p/v	N	N	N
WOMAN ISDIN (Produit topique)	Glycérine, Glyceryl polyacrylate, Acide polyacrylique	10% p/v	N	N	N
Microlax® (Laxatifs)	Citrate de sodium dihydraté, Laurylsulfoacétate de sodium	5% v/v	N	N	N
Scheriproct® (Pommades anti-hémorroïdes)	Prednisolone, Cinchocaïne	10% p/v	N	N	N
Urine (humaine)	-	10% v/v	N	N	N
Sang entier (humain)	-	10%; 25% v/v	N	N	N
Plasma (humain)	-	10% v/v	N	N	N
Mucus (estomac de porc, type II)	-	0,3% p/v	N	N	N
Crème Zovirax®	Acyclovir	7% p/v	N	N	N
Contrôle sans aucune substance interférente	H ₂ O	5% v/v	N	N	N

* La solution vaginale BETADINE® interfère avec le test lorsqu'elle est présente à des concentrations supérieures à 0,04% v/v.

11.4. Précision

La précision du High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD de NZYtech a été déterminée par le test répété d'échantillons positifs de HPV16, HPV18 et HPV45 représentant deux niveaux de charge virale, soit 3x LoD et 30x LoD copies par réaction, introduits dans de l'ADN extrait d'échantillons cervicaux négatifs, en utilisant 3 lots de kits différents, et en suivant les conditions de réaction de test standard. La précision a été évaluée en mesurant la moyenne de Cq, le coefficient de variation de Cq et le pourcentage de détection en répétition, comme décrit ci-dessous pour chaque cas. Les données sont résumées dans les tableaux affichés ci-dessous.

Précision du High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD de NZYtech lors de la détection du gène cible HPV16.

VARIABLE		HPV16 (COPIES/RÉACTION)	
		3x LOD	30x LOD
RÉPÉTABILITÉ	n	12	12
	Cq moyen	33,86	30,37
	Coefficient de variation (%)	0,61	0,79
	% de détection de répliation	100	100
REPRODUCTIBILITÉ QUOTIDIENNE	n	48	48
	Cq moyen	33,65	30,34
	Coefficient de variation (%)	1,25	0,87
	% de détection de répliation	100	100
LOT À LOT REPRODUCTIBILITÉ	n	36	36
	Cq moyen	33,70	30,37
	Coefficient de variation (%)	1,06	0,63
	% de détection de répliation	100	100
OPÉRATEUR REPRODUCTIBILITÉ	n	36	36
	Cq moyen	33,79	30,38
	Coefficient de variation (%)	0,68	0,71
	% de détection de répliation	100	100
ENTRE INSTRUMENTS	n	60	60
	Cq moyen	33,74	30,62
	Coefficient de variation (%)	1,49	1,28
	% de détection de répliation	100	100

Précision du High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD de NZYtech lors de la détection du gène cible HPV18.

VARIABLE		HPV18 (COPIES/REACTION)	
		3x LOD	30x LOD
RÉPÉTABILITÉ	n	12	12
	Cq moyen	34,31	30,75
	Coefficient de variation (%)	0,59	0,70
	% de détection de répliation	100	100
REPRODUCTIBILITÉ QUOTIDIENNE	n	48	48
	Cq moyen	34,20	30,81
	Coefficient de variation (%)	1,13	1,16
	% de détection de répliation	100	100
LOT À LOT REPRODUCTIBILITÉ	n	36	36
	Cq moyen	34,13	30,71
	Coefficient de variation (%)	0,98	0,67
	% de détection de répliation	100	100
OPÉRATEUR REPRODUCTIBILITÉ	n	36	36
	Cq moyen	34,28	30,78
	Coefficient de variation (%)	0,82	0,85
	% de détection de répliation	100	100
ENTRE INSTRUMENTS	n	60	60
	Cq moyen	33,99	30,81
	Coefficient de variation (%)	1,56	1,35
	% de détection de répliation	100	100

Précision du High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD de NZYtech lors de la détection du gène cible HPV45.

VARIABLE		HPV45 (COPIES/REACTION)	
		3x LOD	30x LOD
RÉPÉTABILITÉ	n	12	12
	Cq moyen	34,04	30,35
	Coefficient de variation (%)	1,28	0,56
	% de détection de répliation	100	100
REPRODUCTIBILITÉ QUOTIDIENNE	n	48	48
	Cq moyen	34,01	30,34
	Coefficient de variation (%)	1,52	0,73
	% de détection de répliation	100	100

LOT À LOT	n	36	36
REPRODUCTIBILITÉ	Cq moyen	34,03	30,33
	Coefficient de variation (%)	1,59	0,67
	% de détection de réplication	100	100
OPÉRATEUR	n	36	36
REPRODUCTIBILITÉ	Cq moyen	34,08	30,38
	Coefficient de variation (%)	1,46	1,03
	% de détection de réplication	100	100
ENTRE INSTRUMENTS	n	60	60
	Cq moyen	33,69	30,16
	Coefficient de variation (%)	2,02	1,17
	% de détection de réplication	100	100

11.4.1. Répétabilité

La répétabilité a été évaluée par un opérateur en analysant 12 répétitions de chaque échantillon (copies par réaction de 3x LoD et 30x LoD), pour un nombre final de 24 tests effectués par cible.

11.4.2. Reproductibilité quotidienne

La reproductibilité quotidienne a été évaluée par un opérateur en analysant 48 répétitions de chaque échantillon (copies par réaction de 3x LoD et 30x LoD), pendant 4 jours, avec 12 répétitions de chaque concentration par jour (un total de 96 essais par cible a été réalisé).

11.4.3. Reproductibilité lot à lot

La reproductibilité entre lots a été évaluée par un opérateur à travers l'analyse de 36 répétitions de chaque échantillon (copies par réaction de 3x LoD et 30x LoD) en utilisant 3 lots de kits différents avec 12 répétitions par lot.

11.4.4. Reproductibilité par opérateur

La reproductibilité par opérateur a été évaluée en testant 36 répétitions de chaque échantillon (copies par réaction de 3x LoD et 30x LoD), par trois opérateurs différents avec 12 répétitions par opérateur et par charge virale, soit un total de 24 répétitions par opérateur, incluant les 3 cibles du kit.

11.4.5. Reproductibilité entre des instruments

La reproductibilité inter-instruments a été mesurée par un opérateur en testant 60 répétitions de chaque échantillon (copies par réaction de 3x LoD et 30x LoD), sur cinq instruments de qPCR différents, soit un total de 12 tests par équipement.

FABRICANT D'EQUIPEMENTS DE PCR EN TEMPS REEL	MODELE DE PLATE-FORME PCR EN TEMPS REEL
Applied Biosystems®	7500 FAST
	QuantStudio™ 5
	QuantStudio™ 5 Dx
Bio-Rad®	CFX C1000 Touch Real-time PCR
	CFX Opus Real-time PCR

11.5. Évaluation clinique

La performance clinique du High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD de NZYtech, a été évaluée à l'aide de 139 échantillons cervicaux caractérisés à l'aide d'un kit commercial de PCR isotherme. Les acides nucléiques ont été extraits par un laboratoire externe, puis amplifiés à l'aide du High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD de NZYtech. Les données ont révélé une sensibilité clinique (PPA) de 100 % pour la détection du HPV16 et du HPV18, et de 94 % pour les autres HPV à haut risque. La spécificité clinique (NPA) pour la détection du HPV16 était de 95 %, pour le HPV18 de 99 % et pour les autres HPV à haut risque de 100 %.

De plus, une comparaison de la performance clinique du High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD de NZYtech, et des tests comparateurs de PCR en temps réel a également été réalisée à l'aide d'échantillons cervicaux. Un total de 220 échantillons cliniques ont été caractérisés à l'aide de trois kits commerciaux de PCR en temps réel. Les données ont révélé une sensibilité clinique (PPA) de 100 % pour la détection du HPV16 et du HPV18, et de 83 % pour les autres HPV à haut risque. La spécificité clinique (NPA) pour la détection du HPV16 et du HPV18 était de 100 %, tandis que pour les autres HPV à haut risque, elle était de 98 %.

Les données résumant la performance clinique du High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD de NZYtech, par rapport aux kits comparateurs de PCR isotherme et en temps réel, sont présentées dans le tableau ci-dessous.

ESSAI DE COMPARAISON	CIBLE	VP	VN	FP	FN	SENSIBILITÉ (95% IC)	SPÉCIFICITÉ (95% IC)
PCR isotherme	HPV16	10	123	6	0	100% (72-100%)	95% (90-98%)
	HPV18	5	133	1	0	100% (57-100%)	99% (96-100%)
	Other HR HPV	63	72	0	4	94% (86-98%)	100% (95-100%)
PCR en temps réel	HPV16	36	183	1	0	100% (90-100%)	100% (97-100%)
	HPV18	22	197	1	0	100% (85-100%)	100% (97-100%)
	Autres HR HPV	59	146	3	12	83% (73-90%)	98% (94-99%)

Notes: VP=Vrai Positif ; VN=Vrai Négatif ; FP=Faux Positif ; FN=Faux Négatif ; IC=Intervalle de Confiance.

12. Contrôle de qualité

Tous les composants du High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD de NZYtech sont testés selon les protocoles décrits ci-dessus. Le système de PCR en temps réel multiplex permet la détection des cibles décrites pour l'identification du HPV16, HPV18, de douze HR HPV (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68), ainsi que du gène de la β -actine humaine (ACTB). Les amplifications positives sont observées pour les gènes cibles, le témoin positif et les témoins internes à travers les canaux Texas Red, Cy5, FAM et VIC.












13. Soutien technique

Pour le soutien technique, veuillez contacter notre équipe de soutien technique dédiée par téléphone: +351 (0) 21 364 35 14 ou Email: info@nzytech.com.

14. Marques déposées et clauses de non-responsabilité

Toutes les marques de commerce qui apparaissent dans ce manuel sont la propriété de leurs propriétaires respectifs.

15. Explication des symboles

	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>		Consultez le mode d'emploi
	Numéro de catalogue		Fabricant
	Code du lot		Utiliser jusqu'à
	Limitation de température		Suffisant pour
	Témoin positif		Tenir à l'écart de la lumière du soleil (mélange amorce/sonde)
	Témoin négatif		

16. Déclaration de conformité

Nom du produit: High-Risk HPV Multiplex Real-time PCR Kit, IVD

Numéro de catalogue: MD04921

Utilisation prévue: Détection qualitative du High-risk HPV (types 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 and 68).

Classification: Autre (qui ne sont pas couverts par l'annexe II ou non destiné à autodiagnostic) selon la Directive 98/79/CE.

Fabricant: NZYtech - Genes & Enzymes,

Estrada do Paço do Lumiar, Campus do Lumiar

Edifício E, R/C,

1649-038, Lisboa

Portugal

Nous, NZYtech, Lda – Genes & Enzymes, déclarons que ce produit, auquel se réfère cette déclaration de conformité, est conforme aux normes standard ISO 9001:2015 et ISO 13485:2016, conformément aux dispositions de la directive 98/79/CE et le règlement (UE) 2017/746 appliqué aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*, transposé dans les législations nationales des États membres de l'Union européenne.

Le dossier technique du produit est conservé chez NZYtech, Estrada do Paço do Lumiar, Campus do Lumiar - Edifício E, R/C, 1649-038 Lisboa, Portugal.



Joana Brás, Ph.D.

Directrice technique

17. Références

1. Scarth JA, Patterson MR, Morgan EL, Macdonald A. The human papillomavirus oncoproteins: a review of the host pathways targeted on the road to transformation. *J Gen Virol.* 2021 Mar;102(3):001540. doi: 10.1099/jgv.0.001540. Epub 2021 Jan 11. PMID: 33427604; PMCID: PMC8148304.
2. Bordigoni A, Motte A, Tissot-Dupont H, Colson P, Desnues C. Development and validation of a multiplex qPCR assay for detection and relative quantification of HPV16 and HPV18 E6 and E7 oncogenes. *Sci Rep.* 2021 Feb 17;11(1):4039. doi: 10.1038/s41598-021-83489-2. PMID: 33597592; PMCID: PMC7889863.
3. Meites E.; Gee J.; Unger E. and Markowitz L. Human Papillomavirus (2021) <https://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/hpv.html>.
4. Manini, I., & Montomoli, E. (2018). Epidemiology and prevention of Human Papillomavirus. *Ann Ig,* 30(4), 28-32.
5. de Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, Clifford G, Bruni L, Muñoz N, Bosch FX. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 2007 Jul;7(7):453-9. doi: 10.1016/S1473-3099(07)70158-5. PMID: 17597569.
6. Luo, Q., Zeng, X., Luo, H. et al. Epidemiologic characteristics of high-risk HPV and the correlation between multiple infections and cervical lesions. *BMC Infect Dis* 23, 667 (2023). <https://doi.org/10.1186/s12879-023-08634-w>.
7. Guan P, Howell-Jones R, Li N, Bruni L, de Sanjosé S, Franceschi S, Clifford GM. Human papillomavirus types in 115,789 HPV-positive women: a meta-analysis from cervical infection to cancer. *Int J Cancer.* 2012 Nov 15;131(10):2349-59. doi: 10.1002/ijc.27485. Epub 2012 Mar 20. PMID: 22323075.
8. Burd EM. Human Papillomavirus Laboratory Testing: The Changing Paradigm. *Clin Microbiol Rev* (2016) 29:291–319. doi: 10.1128/cmr.00013-15.
9. Okunade KS. Human papillomavirus and cervical cancer. *J Obstet Gynaecol.* 2020 Jul;40(5):602-608. doi: 10.1080/01443615.2019.1634030. Epub 2019 Sep 10. Erratum in: *J Obstet Gynaecol.* 2020 May;40(4):590. PMID: 31500479; PMCID: PMC7062568.
10. Chan CK, Aimagambetova G, Ukybassova T, Kongrtay K, Azizan A. Human Papillomavirus Infection and Cervical Cancer: Epidemiology, Screening, and Vaccination-Review of Current Perspectives. *J Oncol.* 2019 Oct 10;2019:3257939. doi: 10.1155/2019/3257939. PMID: 31687023; PMCID: PMC6811952.
11. Burd EM. Human Papillomavirus Detection and Utility of Testing. *Clin Microbiol Newsl* (2007) 29:159–67. doi: 10.1016/j.clinmicnews.2007.10.001.

