

REF 617007 NeuMoDx™ HPV Test Strip
R only

VORSICHT: Nur für den US-Export

IVD Nur zur Verwendung mit dem NeuMoDx 288 Molecular System und dem NeuMoDx 96 Molecular System in der *In-vitro*-Diagnostik vorgesehen.

 Elektronische Version verfügbar unter www.qiagen.com/neumodx-ifu

Detaillierte Anleitungen sind dem Benutzerhandbuch für das NeuMoDx 288 Molecular System, Teile-Nr. 40600108, zu entnehmen.

Detaillierte Anleitungen sind dem Benutzerhandbuch für das NeuMoDx 96 Molecular System, Teile-Nr. 40600317, zu entnehmen.

VERWENDUNGSZWECK

Der NeuMoDx HPV Assay, wie auf dem NeuMoDx 96 Molecular System und dem NeuMoDx 288 Molecular System (NeuMoDx System(s)) durchgeführt, ist ein schneller, automatisierter *in-vitro*-diagnostischer Nukleinsäureamplifikationsassay auf Basis der Echtzeit-PCR für den qualitativen Nachweis von DNA von Hochrisikotypen des Humanen Papillomvirus (HPV) in Zervixproben. Der Test identifiziert speziell HPV 16 und HPV 18, während er gleichzeitig auch die anderen Hochrisikotypen (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 und 68) in klinisch relevanten Infektionskonzentrationen nachweist. Zu den Zervixproben, die mit dem NeuMoDx HPV Assay getestet werden können, zählen mit einer bürsten-/besenartigen Entnahmeverrichtung vom Arzt genommene Zervixproben, die in einem der zytologischen Flüssigmedien PreservCyt® (HOLOGIC) und SurePath™ (BD) konserviert wurden. Der Assay ist zum einen als primärer Screeningtest für Frauen ab 21 Jahren auf das Risiko für Gebärmutterhalskrebs (oder eine Vorstufe) vorgesehen, um festzustellen, ob eine Kolposkopie oder andere Folgeuntersuchungen erforderlich sind. Zum anderen kann er als Folgetest für Frauen verwendet werden, bei denen ein Pap-Abstrich atypische Plattenepithelzellen unbestimmter Signifikanz (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) oder eine niedriggradige intraepitheliale Läsion des Plattenepithels (Low-Grade Squamous Intra-Epithelial Lesion, LSIL) ergeben hat, um festzustellen, ob eine Kolposkopie oder andere Folgeuntersuchungen erforderlich sind. Die gewonnenen Informationen können zusammen mit der ärztlichen Beurteilung der Zytologie, der Vorgeschichte, anderen Risikofaktoren und ärztlichen Leitlinien das Patientenmanagement leiten.

Dieses Produkt ist für die Verwendung durch Fachpersonal wie z. B. Labortechniker oder Laboranten vorgesehen, die in der Anwendung *in-vitro*-diagnostischer Verfahren und molekularbiologischer Techniken geschult wurden.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG

Gebärmutterhalskrebs und die ihm vorangehenden Vorläuferläsionen (zervikale intraepitheliale Neoplasie (Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN)) werden durch eine persistierende Infektion mit einem Hochrisikotypen des Humanen Papillomvirus (HPV) ausgelöst.¹⁻³ HPV gehört zur Familie der Papillomaviridae und ist ein kleines, doppelsträngiges DNA-Virus. Das zirkuläre Genom hat eine Größe von etwa 7,9 Kilobasen. Es wurden bereits mehr als 100 Typen von HPV identifiziert; bestimmte HPV-Typen, sogenannte Hochrisiko-HPV (hrHPV) wie HPV 16 oder 18, werden mit der Induktion von Schleimhautläsionen in Verbindung gebracht, aus welchen sich bösartige Tumoren entwickeln können. Das Virusgenom enthält frühe (Early, E) und späte (Late, L) Gene, welche für Proteine codieren, die entsprechend für die frühen oder späten Phasen des HPV-Lebenszyklus benötigt werden. Die E6- und E7-Genprodukte von hrHPV-Typen haben karzinogene Eigenschaften und sind für die maligne Transformation der Wirtszelle erforderlich.⁴ Eine maligne Progression geht häufig mit der Integration des Virus in das Genom der Wirtszelle einher.⁵ Diese Integration führt zu einer Unterbrechung des Virusgenoms in einer Region, die sich von E1 bis L1 des offenen Leserahmens erstrecken kann.⁶ Dies kann sich auf die PCR-vermittelte Amplifikation der viralen DNA in diesen Regionen auswirken. Da nicht nur die Initiierung, sondern auch die Aufrechterhaltung des transformierten Phänotyps eine kontinuierliche Expression der viralen Onkoproteine erfordert, bleibt die virale E6/E7-Region bei Gebärmutterhalskrebs ausnahmslos erhalten.^{6,7,8}

Gebärmutterhalskrebs ist eine seltene Komplikation von HPV-Infektionen. Das Lebenszeitrisko einer hrHPV-Infektion wird auf etwa 80 % geschätzt, doch die große Mehrzahl der Infektionen wird durch das Immunsystem des Wirts erfolgreich bekämpft und führt daher nicht zur Entstehung von Läsionen.⁹ Nach einer überwundenen HPV-Infektion entwickeln sich CIN-Läsionen normalerweise zurück.¹⁰

Tests auf HPV-DNA bieten im Rahmen des primären Screenings von Frauen ab 30 Jahren und der Triage von Frauen ab 21 Jahren mit ASC-US oder LSIL einen besseren Schutz vor Gebärmutterhalskrebs und seinen CIN-Vorläuferläsionen als zytomorphologische Analysen (d. h. Pap-Abstriche) von Zervixproben.¹¹⁻¹⁵ Das primäre HPV-basierte Zervixscreening ist in etlichen Ländern weltweit implementiert, und es existieren internationale Richtlinien über die Anforderungen an HPV-DNA-Tests für das primäre Screening auf Gebärmutterhalskrebs.¹⁶ Der NeuMoDx HPV Assay zielt auf eine konservierte Region im E7-Gen des HPV-Genoms ab, wodurch das Risiko für falsch negative Ergebnisse nach Integration des Virus ins Wirtsgenom eliminiert wird.

PRINZIPIEN DES VERFAHRENS

Der NeuMoDx HPV Assay kombiniert die automatisierte DNA-Extraktion mit der Amplifikation/dem Nachweis mittels Echtzeit-PCR. Zervixproben werden in Flüssigzytologiegelösung entnommen und dann in ein kompatibles sekundäres Probenröhrchen überführt, mit Barcode versehen und in das NeuMoDx System geladen. Das NeuMoDx System aspiriert automatisch ein Aliquot der Probe und mischt es mit NeuMoDx Lysis Buffer 2 und den Agenzien in der NeuMoDx Extraction Plate, um die Verarbeitung zu beginnen. Das NeuMoDx System automatisiert und integriert die DNA-Extraktion und -Aufkonzentration, die Vorbereitung der Reagenzien sowie die Nukleinsäureamplifikation/den Nachweis der Zielsequenzen mittels Echtzeit-PCR. Die in jeder ordnungsgemäß genommenen Probe enthaltene β -Globin(β G)-DNA dient als endogene Probenprozesskontrolle und hilft bei der Überprüfung auf das Vorhandensein inhibitorischer Substanzen sowie auf System-, Prozess- oder Reagenzfehler. Es ist kein Bedieneingriff erforderlich, sobald die Probe und die erforderlichen Verbrauchsmaterialien in das NeuMoDx System geladen wurden.

Das NeuMoDx System führt automatisch Lyse, DNA-Extraktion und die Entfernung von Inhibitoren aus. Die freigesetzten Nukleinsäuren werden durch paramagnetische Partikel aufgenommen. Die Partikel werden zusammen mit den gebundenen Nukleinsäuren in die NeuMoDx Cartridge geladen, wo die ungebundenen Elemente mit NeuMoDx Wash Reagent ausgewaschen werden. Die gebundene DNA wird dann mit NeuMoDx Release Reagent eluiert. Das NeuMoDx System verwendet die eluierte DNA zur Rehydrierung proprietärer NeuDry™ Amplifikationsreagenzien, die alle für 40 Amplifikationszyklen der 15 HPV-Ziele (falls vorhanden) sowie des β -Globin-Ziels benötigten Komponenten enthalten. Auf diese Weise können Amplifikation und Nachweis der Ziel- und der Kontroll-DNA-Sequenzen gleichzeitig erfolgen. Nach der Rekonstitution der PCR-Reagenzien dispensiert das NeuMoDx System die vorbereitete PCR-fertige Mischung in eine PCR-Kammer (pro Probe) der NeuMoDx Cartridge. Amplifikation und Nachweis der Kontroll- und Zielsequenzen (falls vorhanden) erfolgen in der PCR-Kammer. Die NeuMoDx Cartridge ist dafür konzipiert, das Amplifikat nach der PCR zu enthalten, wodurch das Kontaminationsrisiko nach Amplifikation nahezu eliminiert wird.

Die amplifizierten Ziele werden in Echtzeit anhand von Hydrolyse-Sonden-Chemie (allgemein als TaqMan® Chemie bezeichnet) nachgewiesen, wobei fluorogene Oligonukleotidsondenmoleküle angewendet werden, die spezifisch für die Amplifikate ihrer jeweiligen Ziele sind. TaqMan Sonden bestehen aus einem Fluorophor, das kovalent am 5'-Ende der Oligonukleotidsonde gebunden ist, und einem Quencher am 3'-Ende. Bei intakter Sonde führt die Nähe des Fluorophors zum Quencher dazu, dass das Quencher-Molekül die Fluoreszenz des Fluorophors durch Förster-Resonanzenergietransfer (Förster Resonance Energy Transfer, FRET) unterdrückt.

TaqMan Sonden sind so entwickelt, dass sie sich an einen DNA-Bereich, der durch einen spezifischen Satz von Primern amplifiziert wurde, anlagern. Während die Taq-DNA-Polymerase den Primer verlängert und den neuen Strang synthetisiert, sorgt die 5'-3'-Exonuklease-Aktivität der Taq-DNA-Polymerase für den Abbau der Sonde, die sich an das Template angelagert hat. Der Abbau der Sonde setzt das Fluorophor frei und der Abstand zum Quencher wird größer. Dadurch wird der Löscheffekt durch FRET aufgehoben und das Fluorophor kann detektiert werden. Die Intensität des resultierenden Fluoreszenzsignals, das im PCR-Thermocycler des NeuMoDx Systems detektiert wird, ist direkt proportional zum freigesetzten Fluorophor und kann zur Menge der vorhandenen Zielsequenz in Beziehung gesetzt werden.

Zur Detektion von HPV 16 (470/510 nm), HPV 18 (625/660 nm) und den übrigen klinisch signifikanten Hochrisiko(HR)-Typen („HPV Other“ (Andere HPV); 530/555 nm) wird eine am 5'-Ende mit einem Fluorophor und am 3'-Ende mit einem dunklen Quencher markierte TaqMan Sonde eingesetzt. Die Detektion des β -Globins erfolgt über eine TaqMan Sonde, die am 5'-Ende mit einem alternativen Fluoreszenzfarbstoff (585/610 nm) und am 3'-Ende ebenfalls mit einem dunklen Quencher markiert ist. Die NeuMoDx System Software überwacht das von den TaqMan Sonden am Ende jedes Amplifikationszyklus abgegebene Fluoreszenzsignal. Nach Abschluss der Amplifikation analysiert die NeuMoDx System Software die Daten und gibt ein Ergebnis aus (POSITIVE (Positiv)/NEGATIVE (Negativ)/INDETERMINATE (Unbestimmt)/UNRESOLVED (Offen)/NO RESULT (Kein Ergebnis)).

REAGENZIEN/VERBRAUCHSMATERIALIEN

Bereitgestelltes Material

REF	Inhalt	Einheiten pro Packung	Tests pro Einheit	Tests pro Packung
617007	NeuMoDx HPV Test Strip <i>PCR-Trockenreagenzien, die HPV- und βG-spezifische TaqMan® Sonden und Primer enthalten</i>	6	16	96

Benötigte, aber nicht bereitgestellte Materialien (separat bei NeuMoDx erhältlich)

REF	Inhalt
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Getrocknete paramagnetische Partikel, β-Globin-Kontrolle sowie getrocknetes lytisches Enzym</i>
400500	NeuMoDx Lysis Buffer 2
401600	NeuMoDx Viral Lysis Buffer*
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton® CO-RE / CO-RE II Spitzen (300 μl) mit Filtern
235905	Hamilton CO-RE / CO-RE II Spitzen (1000 μl) mit Filtern

* Erforderlich für die Verarbeitung vorbehandelter SurePath-Proben

Benötigte Instrumente

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] oder **NeuMoDx 96 Molecular System** [REF 500200]

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Der NeuMoDx HPV Test Strip ist ausschließlich zur Verwendung in der *In-vitro*-Diagnostik mit den NeuMoDx Molecular Systems bestimmt.
- Die Reagenzien oder Verbrauchsmaterialien nach Ablauf des angegebenen Ablaufdatums nicht mehr verwenden.
- Reagenzien nicht verwenden, wenn das Sicherheitssiegel aufgebrochen oder die Verpackung bei Ankunft beschädigt ist.
- Verbrauchsmaterialien oder Reagenzien nicht verwenden, wenn der Schutzbeutel bei der Ankunft geöffnet oder beschädigt ist.
- Das Mindestprobenvolumen von Sekundäraliquoten ist abhängig von der Röhrchengröße bzw. dem Probenröhrchenträger wie nachstehend definiert. Ein Volumen unter dem angegebenen Mindestvolumen kann zu dem Fehler „Quantity Not Sufficient“ (Menge nicht ausreichend) führen.
- Die Verwendung von Proben, die bei nicht geeigneten Temperaturen oder über die angegebenen Lagerzeiten hinaus aufbewahrt wurden, kann zu ungültigen oder fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Auf den NeuMoDx Molecular Systems dürfen nur mit Viruslysepuffer vorbehandelte SurePath-Proben verwendet werden. Unbehandelte Proben können zu ungültigen oder suboptimalen Ergebnissen führen.
- In Validierungsstudien zur Evaluierung der Probenstabilität im System wurde aufgrund der hohen Volatilität des PreservCyt-Entnahmemediums eine Verdunstung von bis zu 20 % der Probe beobachtet. Es wird nicht erwartet, dass sich dies negativ auf die Probenergebnisse auswirkt; allerdings sollte es bei der Probenvorbereitung berücksichtigt werden, um eine Verzögerung der Verarbeitung zu vermeiden. Bei mit SurePath vorbehandelten Proben wurde keine signifikante Verdunstung beobachtet.
- Eine Kontamination von Reagenzien und Verbrauchsmaterialien mit Mikroorganismen und Desoxyribonuklease (DNase) ist zu vermeiden. Bei Verwendung von Sekundärröhrchen wird die Verwendung steriler, DNase-freier Einwegtransferpipetten empfohlen. Für jede Probe eine neue Pipette verwenden.
- Zur Vermeidung von Kontamination NeuMoDx Cartridge nach der Amplifikation weder handhaben noch beschädigen. NeuMoDx Cartridges unter keinen Umständen aus dem Behälter für biogefährlichen Abfall (NeuMoDx 288 Molecular System) oder dem Eimer für biogefährlichen Abfall (NeuMoDx 96 Molecular System) entnehmen. Die NeuMoDx Cartridge ist dafür konzipiert, Kontamination zu verhindern.
- Wenn das Labor auch PCR-Tests mit offenen Röhrchen ausführt, muss unbedingt gewährleistet werden, dass der NeuMoDx HPV Test Strip, die für die Tests zusätzlich benötigten Verbrauchsmaterialien und Reagenzien, persönliche Schutzausrüstung wie Handschuhe und Laborkittel sowie das NeuMoDx System nicht kontaminiert werden.
- Bei der Handhabung von NeuMoDx Reagenzien und Verbrauchsmaterialien sollten saubere, puderfreie Nitrilhandschuhe getragen werden. Es ist darauf zu achten, dass die Oberseite der NeuMoDx Cartridge, die Oberfläche der Versiegelungsfolie eines NeuMoDx HPV Test Strip und einer NeuMoDx Extraction Plate oder die Oberseiten von Behältern mit NeuMoDx Lysis Buffer 2 nicht berührt werden; die Verbrauchsmaterialien und Reagenzien dürfen ausschließlich an den Seitenflächen angefasst werden.
- Für jedes Reagenz werden, sofern erforderlich, Sicherheitsdatenblätter (Safety Data Sheets, SDS) bereitgestellt unter www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Nach der Durchführung des Tests Hände gründlich waschen.
- Nicht mit dem Mund pipettieren. In Bereichen, in denen Proben oder Reagenzien verarbeitet werden, nicht rauchen, trinken oder essen.
- Proben sind immer wie infektiöses Material und entsprechend den sicheren Laborverfahren (beschrieben in *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁷ und im CLSI-Dokument M29-A4) zu behandeln.¹⁸
- Nicht verwendete Reagenzien und Abfall entsprechend den nationalen, bundesstaatlichen, regionalen, kommunalen und lokalen Vorschriften entsorgen.
- Nicht zur Wiederverwendung.

LAGERUNG, HANDHABUNG UND STABILITÄT VON PRODUKTEN

- Die NeuMoDx HPV Test Strips sind in der Primärverpackung bei Lagerung bei 15–23 °C bis zum angegebenen Ablaufdatum stabil.
- Testprodukte, die bereits auf ein *anderes* NeuMoDx System geladen wurden, nicht erneut laden.
- Ein einmal in das NeuMoDx System geladener NeuMoDx HPV Test Strip kann dort bis zu 14 Tage belassen werden. Die verbleibende Haltbarkeitsdauer der im Gerät befindlichen Teststreifen wird durch die Software verfolgt und dem Benutzer in Echtzeit mitgeteilt. Das System fordert zur Entfernung von Teststreifen auf, die schon über den zulässigen Zeitraum hinaus in Verwendung sind.

PROBENNAHME, HANDHABUNG, LAGERUNG UND TRANSPORT

1. Der NeuMoDx HPV Assay ist für die Verwendung mit Proben vorgesehen, die aus Zervixproben gewonnen wurden. Die validierten Entnahmemedien für Zervixproben sind PreservCyt und SurePath. Zur Vorbereitung und Lagerung der Proben die Anweisungen des Herstellers der Entnahmevorrichtung befolgen.
2. SurePath-Proben müssen vor der Verwendung gemäß den nachstehenden spezifischen Anweisungen vorbehandelt werden.
3. **Gekühlte Proben sollten vor der Verarbeitung mindestens 30 Minuten lang auf Raumtemperatur äquilibriert werden, um eine ordnungsgemäße Systemleistung sicherzustellen.**

4. Vorbereitete Zervixproben können vor der Verarbeitung bis zu 24 Stunden im NeuMoDx System aufbewahrt werden. Wenn zusätzliche Lagerungszeit benötigt wird, können die Proben wie folgt aufbewahrt werden:

Zervixproben in **PreservCyt**:

- a. Bei Lagerung bei 15–25 °C bis zu 6 Wochen nach Probennahme
- b. Bei Lagerung bei 2–8 °C bis zu 3 Monate nach Probennahme
- c. Bei Lagerung bei –80 °C bis zu 8 Jahre. Gefrorene Proben zunächst bei Raumtemperatur (15–30 °C) vollständig auftauen lassen und dann vortexen, um eine gleichmäßige Verteilung der Probe zu erreichen.

Zervixproben in **SurePath**:

- a. Bei Lagerung bei 2–30 °C bis zu 30 Tage nach Probennahme
- b. Bei Lagerung bei 2–8 °C bis zu 180 Tage nach Probennahme
- c. Bei Lagerung bei –20 °C bis zu 180 Tage. Gefrorene Proben zunächst bei Raumtemperatur (15–30 °C) vollständig auftauen lassen und dann vortexen, um eine gleichmäßige Verteilung der Probe zu erreichen.

5. Wenn die Proben verschickt werden, sind sie in Übereinstimmung mit den geltenden Vorschriften auf Landes- und/oder internationaler Ebene zu verpacken und beschriften.
6. Proben klar etikettieren und Proben, die für HPV-Tests vorgesehen sind, entsprechend kennzeichnen.

GEBRAUCHSANWEISUNG

Testvorbereitung – PRESERVCYT

1. Proben-Barcodeetikett auf einem mit dem NeuMoDx System kompatiblen Probenröhrchen anbringen.
2. Das mit Barcode versehene Röhrchen in den Probenröhrchenträger stellen und vor dem Einsetzen in das NeuMoDx System sicherstellen, dass der Deckel entfernt wurde.
3. Die **PreservCyt**-Probe ist gemäß den nachfolgend definierten Volumen zu aliquotieren:
 - Probenröhrchenträger (32 Röhrchen): 11–14 mm Durchmesser und 60–120 mm Höhe; Mindestfüllvolumen = 400 µl
 - Probenröhrchenträger (24 Röhrchen): 14,5–18 mm Durchmesser und 60–120 mm Höhe; Mindestfüllvolumen = 850 µl
 - Probenröhrchenträger für geringes Volumen (32 Röhrchen): 1,5-ml-Mikrozentrifugenröhrchen mit Konusboden; Mindestfüllvolumen = 250 µl

Testvorbereitung – SUREPATH

1. SurePath-Probe 1:1 mit NeuMoDx Viral Lysis Buffer vorbehandeln und gründlich mischen. Mit ausreichendem Volumen arbeiten, um das unten definierte Mindestprobenvolumen zu erreichen.
2. 20 Minuten lang bei 90 °C inkubieren und anschließend vor dem nächsten Schritt auf Raumtemperatur äquilibrieren.
3. Proben-Barcodeetikett auf einem mit dem NeuMoDx System kompatiblen Probenröhrchen anbringen.
4. Das mit Barcode versehene Röhrchen in den Probenröhrchenträger stellen und vor dem Einsetzen in das NeuMoDx System sicherstellen, dass der Deckel entfernt wurde.
5. Die **SurePath**-Probe ist gemäß den nachfolgend definierten Volumen zu aliquotieren:
 - Probenröhrchenträger (32 Röhrchen): 11–14 mm Durchmesser und 60–120 mm Höhe; Mindestfüllvolumen = 450 µl
 - Probenröhrchenträger (24 Röhrchen): 14,5–18 mm Durchmesser und 60–120 mm Höhe; Mindestfüllvolumen = 800 µl
 - Probenröhrchenträger für geringes Volumen (32 Röhrchen): 1,5-ml-Mikrozentrifugenröhrchen mit Konusboden; Mindestfüllvolumen = 300 µl

Betrieb des NeuMoDx System

Detaillierte Anleitungen sind den Benutzerhandbüchern für das NeuMoDx 288 Molecular System und das NeuMoDx 96 Molecular System (Teile-Nr. 40600108 und 40600317) zu entnehmen.

1. Den Testauftrag entsprechend dem gewünschten Probenotyp in das NeuMoDx System laden.
 - PreservCyt-Proben werden für den Test als „Cytology“ (Zytologie) definiert.
 - Vorbehandelte SurePath-Proben werden für den Test als „User Specified1“ definiert.

Wenn im Testauftrag keine Definition vorliegt, wird standardmäßig der PreservCyt-Probenotyp verwendet.

2. Einen oder mehrere Teststreifenträger des NeuMoDx System mit NeuMoDx HPV Test Strip(s) befüllen und den/die Teststreifenträger über den Touchscreen in das NeuMoDx System laden.
3. Bei Aufforderung durch die NeuMoDx System Software die erforderlichen Verbrauchsmaterialien in die Verbrauchsmaterialträger des NeuMoDx System geben und den/die Träger über den Touchscreen in das NeuMoDx System laden.

- Bei Aufforderung durch die NeuMoDx System Software das NeuMoDx Wash Reagent oder NeuMoDx Release Reagent ersetzen, den Priming-Abfall, den Behälter für biogefährlichen Abfall (nur NeuMoDx 288 Molecular System), den Spitzenabfallbehälter (nur NeuMoDx 96 Molecular System) oder den Eimer für biogefährlichen Abfall (nur NeuMoDx 96 Molecular System) leeren.
- Das/die Probenröhrchen in einen Probenröhrchenträger laden und darauf achten, dass die Deckel von allen Röhrchen entfernt wurden.
- Den/die Probenröhrchenträger auf das Autolader-Regal setzen und über den Touchscreen in das NeuMoDx System laden. Dadurch wird die Verarbeitung der für die identifizierten Tests geladenen Proben eingeleitet, sofern im System ein gültiger Testauftrag vorliegt.

ANWENDUNGSEINSCHRÄNKUNGEN

- Der NeuMoDx HPV Test Strip kann ausschließlich auf NeuMoDx Systems verwendet werden.
- Die Leistung des NeuMoDx HPV Test Strip wurde für die Verwendung mit Proben ermittelt, die aus Zervixproben (Abstrichen) in PreservCyt, SurePath oder vergleichbaren Zytologiemedien gewonnen wurden. Die Verwendung des NeuMoDx HPV Test Strip mit Proben anderer Herkunft wurde nicht bewertet und die Leistungsmerkmale für andere Probentypen oder Entnahmemedien sind nicht bekannt.
- Auf den NeuMoDx Molecular Systems dürfen nur mit Viruslysepuffer vorbehandelte SurePath-Proben verwendet werden. Unbehandelte Proben können zu ungültigen oder suboptimalen Ergebnissen führen.
- Da der HPV-Nachweis von der Menge des in der Probe vorhandenen Gewebes abhängig ist, sind ordnungsgemäße Probennahme, Handhabung und Lagerung für zuverlässige Ergebnisse erforderlich.
- Eine unsachgemäße Probennahme, Handhabung, Lagerung, technische Fehler oder eine Verwechslung von Probenröhrchen könnte zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Zusätzlich können negative Ergebnisse erhalten werden, wenn die Anzahl von Viruspartikeln in der Probe unterhalb der Nachweisgrenze des NeuMoDx HPV Assay liegt.
- Das NeuMoDx System darf ausschließlich von Personal bedient werden, das in der Anwendung des NeuMoDx System geschult ist.
- Wenn weder die HPV-Zielsequenzen noch das β -Globin-Ziel amplifiziert werden, wird ein ungültiges Ergebnis ausgegeben – „Indeterminate“ (Unbestimmt), „No Result“ (Kein Ergebnis) oder „Unresolved“ (Offen) – und der Test sollte wiederholt werden.
- Ein positives Ergebnis zeigt nicht unbedingt das Vorhandensein lebensfähiger HPV-Erreger an. Allerdings deutet ein positives Ergebnis auf das Vorhandensein von HPV-DNA hin.
- Deletionen oder Mutationen in den konservierten Regionen, auf die der NeuMoDx HPV Assay abzielt, können den Nachweis beeinträchtigen und zu einem fehlerhaften Ergebnis führen.
- Die Ergebnisse des NeuMoDx HPV Assay sollten zusätzlich zu klinischen Beobachtungen und sonstigen Informationen, die dem Arzt zur Verfügung stehen, herangezogen werden.
- Um die Kontamination von Proben zu vermeiden, werden gute Laborpraktiken, einschließlich des Wechsels der Handschuhe bei Handhabung verschiedener Patientenproben, empfohlen.

ERGEBNISVERARBEITUNG

Die verfügbaren Ergebnisse können unter der Registerkarte „Results“ (Ergebnisse) im Fenster „Results“ (Ergebnisse) auf dem Touchscreen des NeuMoDx System angezeigt oder ausgedruckt werden. Die Ergebnisse des NeuMoDx HPV Assay werden unter Anwendung des Entscheidungsalgorithmus und der Verarbeitungsparameter, die in der NeuMoDx HPV Assay-Definitionsdatei (HPV-ADF) spezifiziert sind, automatisch durch die NeuMoDx System Software generiert. Das Ergebnis eines NeuMoDx HPV Assay kann basierend auf dem Amplifikationsstatus der Zielsequenzen und der Probenprozesskontrolle als „Negative“ (Negativ), „Positive“ (Positiv), „Indeterminate“ (IND) (Unbestimmt), „No Result“ (NR) (Kein Ergebnis) oder „Unresolved“ (UNR) (Offen) gemeldet werden. Die Ergebnisse werden auf Grundlage des ADF-Entscheidungsalgorithmus angegeben, wie nachstehend in *Tabelle 1* zusammengefasst.

Die Ct-Schwellenwerte für die einzelnen Ziele wurden ermittelt und sind nachstehend in *Tabelle 2* aufgeführt, um die klinische Relevanz des Assays zu demonstrieren. Es kann vorkommen, dass eine Zielamplifikationskurve beobachtet, aber dennoch das Ergebnis „Negative“ (Negativ) gemeldet wird. Diese Ergebnismeldung steht im Einklang mit den von NeuMoDx validierten Ergebnisverarbeitungs- und Cutoff-Kriterien.

Die durch den NeuMoDx HPV Test gemeldeten Ergebnisse müssen durch einen Arzt im Zusammenhang mit weiteren Befunde ausgewertet werden.

Tabelle 1. Zusammenfassung des Entscheidungsalgorithmus des HPV Assay

ERGEBNIS	HPV16	HPV18	Andere HPV	PROZESSKONTROLLE (βG)
POSITIVE (POSITIV)	AMPLIFIED (AMPLIFIZIERT)	N/A^(n. z.^)	N/A^(n. z.^)	N/A^(n. z.^)
POSITIVE (POSITIV)	N/A^(n. z.^)	AMPLIFIED (AMPLIFIZIERT)	N/A^(n. z.^)	N/A^(n. z.^)
POSITIVE (POSITIV)	N/A^(n. z.^)	N/A^(n. z.^)	AMPLIFIED (AMPLIFIZIERT)	N/A^(n. z.^)
NEGATIVE (NEGATIV)	NOT AMPLIFIED (NICHT AMPLIFIZIERT)	NOT AMPLIFIED (NICHT AMPLIFIZIERT)	NOT AMPLIFIED (NICHT AMPLIFIZIERT)	AMPLIFIED (AMPLIFIZIERT)
IND (Unbestimmt)	NOT AMPLIFIED, System Error Detected, Sample Processing Completed (Nicht amplifiziert, Systemfehler festgestellt, Probenverarbeitung abgeschlossen)			
IND/NR* (Unbestimmt/kein Ergebnis)	NOT AMPLIFIED, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Nicht amplifiziert, Systemfehler festgestellt, Probenverarbeitung abgebrochen)			
UNR (Offen)	NOT AMPLIFIED, No System Errors Noted (NICHT AMPLIFIZIERT, keine Systemfehler festgestellt)			

* Das Flag „No Result“ (Kein Ergebnis) wird nur von NeuMoDx System Software der Version 1.8 und höher gemeldet.

^ N. Z. = nicht zutreffend

Tabelle 2. Ct-Cutoff-Werte für positive Bestimmungen

ERGEBNIS	HPV16	HPV18	Andere HPV	PROZESSKONTROLLE (βG)
POSITIVE (POSITIV)	33	33	30	n. z.*

* n. z. = nicht zutreffend

Qualitätskontrolle

Die lokalen Vorschriften legen in der Regel fest, dass das Labor für die Kontrollverfahren verantwortlich ist, die die Richtigkeit und Präzision des kompletten Analyseprozesses überwachen, und unter Verwendung bestätigter Leistungsspezifikationen für ein unverändertes, zugelassenes Testsystem Anzahl, Typ und Häufigkeit der Testkontrollmaterialien feststellen muss.

Anwenderdefinierte (externe) Kontrollen

- Geeignete anwenderdefinierte Kontrollen müssen in Übereinstimmung mit lokalen Bestimmungen vom Labor ausgewählt und validiert werden. Es ist zu beachten, dass die anwenderdefinierten Kontrollen basierend auf der Größe des Probenröhrchenträgers die gleichen Mindestanforderungen an das Volumen (wie oben angegeben) erfüllen müssen wie klinische Proben.
- Bei der Verarbeitung von anwenderdefinierten Kontrollen die beschrifteten Kontrollen in einen Probenröhrchenträger setzen und den Träger über den Touchscreen aus dem Autolader-Regal in das NeuMoDx System laden. Sobald sie definiert wurden, erkennt das NeuMoDx System die Barcodes und startet die Verarbeitung der Kontrollen.
- Benutzern wird die Verarbeitung eines Satzes anwenderdefinierter Positiv- und Negativkontrollen alle 24 Stunden empfohlen.
- Ein positives Ergebnis für eine Probe einer anwenderdefinierten Negativkontrolle kann auf ein Kontaminationsproblem der Probe hinweisen. Tipps zur Fehlerbehebung siehe *Benutzerhandbuch für das NeuMoDx 288 bzw. 96 Molecular System*.
- Ein negatives Ergebnis für eine Probe einer anwenderdefinierten Positivkontrolle kann darauf hinweisen, dass ein Problem im Zusammenhang mit dem Reagenz oder dem NeuMoDx System besteht. Tipps zur Fehlerbehebung siehe *Benutzerhandbuch für das NeuMoDx 288 bzw. 96 Molecular System*.

(Interne) Probenprozesskontrolle

β-Globin (βG) dient als endogene interne Kontrolle, da es in ordnungsgemäß entnommenen Zervixabstrichen vorhanden sein muss. Das βG-Ziel wird mit jeder Probe dem gesamten Prozess der Nukleinsäure-Extraktion und Echtzeit-PCR-Amplifikation unterzogen und dient zusätzlich zur Prüfung der Probenqualität. In jedem NeuMoDx HPV Test Strip sind für die interne β-Globin-Kontrolle spezifische Primer und Sonden sowie die Primer und Sonden für die verschiedenen HPV-Ziele enthalten, sodass die Detektion von βG zusammen mit der Ziel-HPV-DNA (falls vorhanden) mittels Multiplex-PCR möglich ist. Die Detektion der βG-Amplifikation erlaubt der NeuMoDx System Software die Überprüfung der Effizienz von Probenentnahme, DNA-Extraktion und PCR-Amplifikation.

Kontrollen des/der NeuMoDx System(s)

Das/die NeuMoDx System(s) führt/führen verschiedene instrumenteninterne Kontrollen durch:

1. Vor der PCR führt das NeuMoDx System automatisch einen „FILL CHECK“ (Füllstandsprüfung) durch, um sicherzustellen, dass die PCR-Kammer mit Lösung gefüllt ist und eine ausreichende Menge an fluoreszierender Sonde enthält.
2. Die NeuMoDx System Software überwacht kontinuierlich Sensoren und Stellteile im Gerät, um einen sicheren und effektiven Betrieb des Systems zu gewährleisten.
3. Verschiedene fluidische Fehlerbehebungsmodi sind durch die aktive Überwachung von Aspirations- und Dispensierungsvorgängen implementiert, um sicherzustellen, dass das System entweder die Verarbeitung aller Proben sicher und effektiv abschließen oder einen angemessenen Fehlercode bereitstellen kann.
4. Das NeuMoDx System ist mit einer automatischen Funktion für Rerun/Repeat (Wiederholungsläufe) ausgestattet, die der Benutzer aktivieren kann, damit als INVALID (Ungültig) gemeldete Proben automatisch erneut verarbeitet und Verzögerungen bei der Ergebnismeldung vermieden werden.

Ungültige Ergebnisse

Wenn ein auf dem NeuMoDx System ausgeführter NeuMoDx HPV Assay kein gültiges Ergebnis erzielt, wird er basierend auf der aufgetretenen Fehlerart entweder als Indeterminate (IND) (Unbestimmt), Unresolved (UNR) (Offen) oder No Result (NR) (Kein Ergebnis) gemeldet.

Das Ergebnis IND wird gemeldet, wenn während der Probenverarbeitung ein Fehler im NeuMoDx System erkannt wird. Falls das Ergebnis IND gemeldet wird, empfiehlt sich ein erneuter Test.

Das Ergebnis UNR wird gemeldet, wenn keine gültige Amplifikation von HPV-DNA oder β G nachweisbar ist, was auf einen möglichen Reagenzfehler oder das Vorliegen von Inhibitoren hinweist. Falls das Ergebnis UNR gemeldet wird, empfiehlt sich als erster Schritt ein erneuter Test. Wenn ein Wiederholungstest fehlschlägt, kann eine Probenverdünnung verwendet werden, um die Auswirkungen einer etwaigen Probeninhibition abzumildern.

Das Ergebnis NR wird gemeldet, wenn die Probenverarbeitung aufgrund eines Systemfehlers abgebrochen wird. Falls das Ergebnis NR gemeldet wird, empfiehlt sich ein erneuter Test. Dieses Flag wird nur von NeuMoDx Software der Version 1.8 und höher gemeldet. Frühere Versionen der Software melden diesen Fehler als IND.

LEISTUNGSMERKMALE

Analytische Sensitivität

Die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) wurde mithilfe einer seriellen dreifachen Verdünnungsreihe von gBlocks (doppelsträngigen Blöcken genomischer DNA) ermittelt, welche die zu amplifizierenden Regionen für jeden der Ziel-HPV-Typen (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67, 68) sowie β -Globin enthielten. Jede der jeweils sechs Verdünnungskonzentrationen (außer für β -Globin) wurde in einem Hintergrund von 2000 ng/ml Human-DNA angesetzt und 45-fach getestet. Die Ergebnisse der Studie zur Bestimmung der LoD unter Anwendung einer 95%-Trefferquotenanalyse sind nachstehend in *Tabelle 3* aufgeführt.

Tabelle 3. Nachweisgrenze (LoD) des NeuMoDx HPV Assay für 15 hrHPV-Typen sowie das β -Globin-Gen

Ziel	Nachweisgrenze (Kopien/ml)
HPV 16	8.230
HPV 18	2.743
HPV 31	24.691
HPV 33, 35, 39, 45, 51, 56, 66, 67	74.074
HPV 52, 58, 59	222.222
HPV 68	666.667
β -Globin	74.074

Analytische Spezifität

Die analytische Spezifität des NeuMoDx HPV Assay wurde gegen DNA von Nicht-Ziel-HPV-Genomen (*Tabelle 4*) bei 1×10^6 Kopien/ml und gegen die in *Tabelle 5* aufgeführten potenziell pathogenen vaginalen Mikroorganismen bei 1×10^6 KbE/ml oder 1×10^5 PFU/ml bestimmt. Der Assay ergab keinerlei Kreuzreaktivität mit den Nicht-Ziel-HPV-Typen 6, 11, 26, 30, 34, 53, 69, 73, 82 und 85 oder den Mikroorganismen. Mit HPV 70 wurden positive Ergebnisse für „HPV Other“ (Andere HPV) erhalten – wahrscheinlich aufgrund der hohen Sequenzhomologie zwischen den Typen 39, 68 und 70 – und eine anschließende Titrationsstudie ergab, dass dieser Typ bei $\geq 4,12 \times 10^6$ Kopien/ml nachgewiesen werden konnte. HPV 70 wird basierend auf epidemiologischen, phylogenetischen und funktionalen Studien als wahrscheinlich karzinogen angesehen.

Tabelle 4. Auf Kreuzreaktivität untersuchte Nicht-Ziel-HPV-Typen

Nicht-Ziel-HPV-Genotypen	
HPV 6	HPV 69
HPV 11	HPV 70
HPV 26	HPV 73
HPV 30	HPV 82
HPV 34	HPV 85
HPV 53	

Tabelle 5. Auf Kreuzreaktivität untersuchte Mikroorganismen

Mikroorganismus		
Adenovirus*	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	Epstein-Barr-Virus	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus agalactiae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Fusobacterium spp.</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Herpes-simplex-Virus 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	Herpes-simplex-Virus 2	<i>Staphylococcus faecalis</i>
<i>Corynebacterium spp.</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Staphylococcus pyogenes</i>
Zytomegalievirus	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
<i>Treponema pallidum**</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	

* getestet bei 1×10^5 (TCID₅₀)/ml

** durchgeführt durch In-silico-Analyse

Analytische Reproduzierbarkeit

Die analytische Reproduzierbarkeit des NeuMoDx HPV Assay wurde anhand des gleichen Datensatzes evaluiert, der auch für die Untersuchung der Nachweisgrenze verwendet wurde. Die Proben wurden bei 3-facher LoD auf 3 verschiedenen NeuMoDx Molecular Systems, 1 N288 und 2 N96 Systemen, mit 3 verschiedenen Chargen der NeuMoDx HPV Test Strips getestet. Die Daten zeigten insgesamt eine ausgezeichnete Reproduzierbarkeit, mit einem maximalen VK von 3,0 % für jeden der getesteten Genotypen, wie in *Tabelle 6* dargestellt. Zudem wurde dieser Datensatz verwendet, um die Reproduzierbarkeit zwischen Reagenzchargen und Systemen zu demonstrieren, wie in *Tabelle 7* dargestellt.

Tabelle 6. Getestete hrHPV-Genotypen

Ziel	Zielkonzentration	Kopien/ml	Trefferquote	Gesamt-VK
β-Globin	3-fache LoD	222222	100 % (45/45)	1,8 %
HPV 16		24691	100 % (44/44)	1,3 %
HPV 18		8230	100 % (45/45)	1,3 %
HPV 31		74074	100 % (45/45)	1,3 %
HPV 33		222222	100 % (45/45)	1,6 %
HPV 35		222222	100 % (45/45)	0,8 %
HPV 39		222222	100 % (45/45)	1,4 %
HPV 45		222222	100 % (45/45)	1,5 %
HPV 51		222222	100 % (45/45)	1,8 %
HPV 52		666667	97,8 % (44/45)	3,0 %
HPV 56		222222	100 % (45/45)	1,3 %
HPV 58		666667	100 % (44/44)	2,4 %
HPV 59		666667	100 % (45/45)	2,5 %
HPV 66		222222	100 % (45/45)	1,8 %
HPV 67		222222	100 % (45/45)	1,4 %
HPV 68		2000000	100 % (45/45)	2,9 %

Tabelle 7. Reproduzierbarkeit von Charge zu Charge und System zu System

Ziel	VK Chargenvariabilität			VK Systemvariation		
	Charge 1	Charge 2	Charge 3	System 1 (N96)	System 2 (N288)	System 3 (N96)
β-Globin	1,5 %	2,4 %	1,0 %	1,7 %	2,4 %	1,0 %
HPV 16	0,9 %	1,1 %	1,6 %	1,8 %	1,0 %	0,9 %
HPV 18	1,2 %	1,6 %	0,9 %	1,1 %	1,0 %	1,5 %
HPV 31	1,3 %	1,5 %	1,1 %	1,1 %	1,2 %	1,1 %
HPV 33	2,1 %	1,4 %	1,2 %	0,9 %	2,5 %	0,9 %
HPV 35	0,7 %	0,7 %	0,9 %	0,9 %	0,7 %	0,8 %
HPV 39	1,6 %	1,6 %	0,8 %	1,1 %	1,9 %	0,9 %
HPV 45	1,5 %	1,4 %	1,7 %	1,4 %	1,6 %	1,1 %
HPV 51	2,1 %	1,2 %	1,9 %	1,1 %	2,3 %	1,4 %
HPV 52	2,2 %	4,0 %	2,5 %	1,5 %	3,9 %	1,6 %
HPV 56	1,4 %	1,5 %	1,1 %	0,6 %	1,5 %	1,3 %
HPV 58	1,3 %	3,2 %	2,2 %	2,1 %	1,8 %	3,0 %
HPV 59	2,3 %	2,4 %	2,7 %	1,1 %	2,3 %	0,9 %
HPV 66	2,5 %	1,5 %	0,8 %	1,3 %	2,3 %	1,3 %
HPV 67	1,1 %	1,2 %	1,8 %	0,6 %	2,1 %	1,1 %
HPV 68	1,4 %	3,1 %	3,8 %	1,5 %	3,9 %	1,9 %

Störsubstanzen

Künstliche Proben aus PreservCyt wurden mit 1000 Kopien/ml eines rekombinanten Baculovirus, das die zu amplifizierenden Regionen von HPV 16, 18 und 51 sowie β-Globin enthielt, sowie den in *Tabelle 8* aufgeführten Substanzen versetzt. Keine der Substanzen hatte einen signifikanten Störeffekt auf die Leistung des Assay.

Tabelle 8. Getestete potenzielle Störsubstanzen

	Stoff	Konzentration
Endogen	Vollblut (human)	1 % (v/v)
	Leukozyten	10 ⁶ Zellen/ml
	Mucin	1 % (v/v)
Exogen	Intimtusche	1 % (v/v)
	Antipilzcreme	1 % (w/v)
	Spermizid	1 % (w/v)
	Vaginalgleitgel	1 % (w/v)
	Weibliches Hygienespray	1 % (v/v)
	Verhütungsschaum	1 % (w/v)

Probenstabilität im Gerät

Entweder SurePath- oder PreservCyt-Entnahmemedium wurde mit Kopien/ml von ungefähr der 3-fachen LoD einer rekombinanten Baculovirus-Kontrolle versetzt, die die Ziele für HPV 16, 18, 51 und β-Globin enthielt, und mit dem NeuMoDx HPV Assay verarbeitet. Nach Abschluss der Verarbeitung wurden alle Positiv- und Negativprobenröhrchen 4, 8 und 24 Stunden lang auf der Systemarbeitsplattform belassen und danach erneut getestet. Das erwartete Ergebnis war bei allen mit Ziel versetzten Zytologieproben zu allen Zeitpunkten POSITIVE (POSITIV) und in den nicht mit Ziel versetzten Zytologieproben NEGATIVE (NEGATIV) (für alle Ziele). Zum 24-Stunden-Zeitpunkt wurde eine vollständige Übereinstimmung mit dem erwarteten Ergebnis beobachtet, was belegt, dass für das Testen mit dem NeuMoDx HPV Assay von einer Stabilität im Gerät von 24 Stunden ausgegangen werden kann. Die Ergebnisse sind in *Tabelle 9* unten zusammengefasst. Bei den PreservCyt-Proben trat während der 24-stündigen Aufbewahrung im Gerät eine Verdunstung von bis zu 20 % auf, die bei den getesteten Konzentrationen jedoch nicht den Zielnachweis beeinträchtigt hat.

Tabelle 9. Zusammenfassung der Daten zur Probenstabilität im Gerät

Probenstabilität im Gerät	Ziel	PreservCyt		SurePath	
		T ₀	24 Std.	T ₀	24 Std.
		% Übereinstimmung	% Übereinstimmung	% Übereinstimmung	% Übereinstimmung
Positiv-Satz	HPV 16	100 %	100 %	100 %	100 %
	HPV 18	100 %	100 %	100 %	100 %
	Andere HPV	100 %	100 %	100 %	100 %
	β-Globin	100 %	100 %	100 %	100 %
Negativ-Satz	Negativ (nur β-Globin)	100 %	100 %	100 %	100 %

Klinische Leistung – PreservCyt-Entnahmemedium

Die klinische Sensitivität und Spezifität des NeuMoDx HPV Assay für zervikale intraepitheliale Neoplasien des Grades 2 oder höher (CIN2+) in in PreservCyt entnommenen Zervixproben wurden durch eine Nichtunterlegenheitsanalyse relativ zum Referenz-Assay (d. h. Hochrisiko-HPV GP5+/6+-PCR-EIA) unter Einhaltung internationaler Richtlinien über die Anforderungen an HPV-Tests für das Screening auf Gebärmutterhalskrebs evaluiert.¹⁶ Im Format einer Fallkontrollstudie wurden 67 Proben von Frauen ab 30 Jahren mit histologisch bestätigter CIN2+ (d. h. Fälle; *Tabelle 10*) getestet. Zur Untersuchung der klinischen Spezifität wurden 823 nacheinander entnommene zytologische Flüssigproben aus der Screeningpopulation von Frauen mit normaler Zytologie getestet, bei denen innerhalb einer zweijährigen Nachsorgeperiode keine Anzeichen für CIN2+ nachweisbar waren (d. h. Kontrollen). Die Gesamt-Erfolgsrate mit dem NeuMoDx HPV Assay lag bei 99,4 % (818/823), wie in *Tabelle 11* dargestellt. Die klinische Sensitivität des NeuMoDx HPV Assay für CIN2+ lag bei 92,5 % (62/67; 95%-KI: 83,3–96,9) und die klinische Spezifität für CIN2+ bei 95,6 % (782/818; 95%-KI: 92,2–97,6). Beide Ergebnisse waren denen für den Referenz-Assay GP5+/6+-PCR-EIA ($P = 0,02$ bzw. $P < 0,0001$) nicht unterlegen.

Tabelle 10. Ergebnisse der klinischen Sensitivität für Proben von Frauen ab 30 Jahren mit bestätigter CIN2+

Referenztest	NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	GESAMT
POS	61	2	63
NEG	1	3	4
GESAMT	62	5	67
Klinische Sensitivität des NeuMoDx HPV Assay: 92,5 % (95%-KI: 83,3–96,9)			

Tabelle 11. Ergebnisse der klinischen Spezifität für Proben von Frauen mit normaler Zytologie und ohne bestätigte CIN2+

Referenztest	NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	GESAMT
POS	28	19	47
NEG	8	763	771
GESAMT	36	782	818
Klinische Spezifität des NeuMoDx HPV Assay: 95,6% (95%-KI: 92,2-97,6)			

Zur Berücksichtigung von Frauen unter 30 Jahren wurden 173 zytologische Flüssigproben von Frauen getestet, die in einer Ambulanz in Behandlung waren. Die Erfolgsrate des NeuMoDx HPV Assay lag bei 98,3 % (170/173) (*Tabelle 12*). Die Sensitivität des NeuMoDx HPV Assay für CIN3+ lag bei 91,1 % (41/45; 95%-KI: 78,6–96,6) und die Spezifität für CIN3+ bei 51,2 % (64/125; 95%-KI: 42,5–60,0). Die relativen Sensitivitäts- und Spezifitätswerte verglichen mit dem QIAScreen HPV PCR Test lagen bei 1,03 bzw. 1,10.

Tabelle 12. Leistung des NeuMoDx HPV Assay bei Frauen < 30 Jahren, stratifiziert mittels Histologie und QIAScreen HPV PCR Test

Histologie	QIAScreen HPV PCR Test	NeuMoDx HPV Assay		
		NEG	POS	GESAMT
<=CIN1	NEG	53	1	54
	POS	6	43	49
	GESAMT	59	44	103
CIN2	NEG	4	-	4
	POS	1	17	18
	GESAMT	5	17	22
CIN3+	NEG	4	1	5
	POS	-	40	40
	GESAMT	4	41	45
INSGESAMT	NEG	61	2	63
	POS	7	100	107
	GESAMT	68	102	170

Für Frauen mit ASC-US oder LSIL lag die klinische Sensitivität für CIN2+ bei 91,7 % (11/12; 95%-KI: 58,7–98,8) und die klinische Spezifität für CIN2+ bei 75,0 % (15/20; 95%-KI: 52,2–89,2) (Tabelle 13).

Tabelle 13. Leistung des NeuMoDx HPV Assay bei Frauen mit ASC-US-/LSIL-Zytologie, stratifiziert mittels Histologie und Referenztestergebnis

Histologie	Referenz-Assay	NeuMoDx HPV Assay		
		NEG	POS	GESAMT
<=CIN1	NEG	13	-	13
	POS	2	5	7
	GESAMT	15	5	20
CIN2	NEG	-	-	-
	POS	-	6	6
	GESAMT	-	6	6
CIN3+	NEG	1	-	1
	POS	-	5	5
	GESAMT	1	5	6
INSGESAMT	NEG	14	-	14
	POS	2	16	18
	GESAMT	16	16	32

Klinische Leistung – SurePath-Entnahmemedium

Die klinische Sensitivität und Spezifität des NeuMoDx HPV Assay für den Nachweis von CIN2+ wurden im Format einer Fallkontrollstudie anhand von 948 in SurePath-Entnahmemedium entnommenen Zervixabstrichproben bestimmt. Die relative Sensitivität und Spezifität des NeuMoDx HPV Assay für CIN2+ verglichen mit einem klinisch validierten Referenz-Assay (d. h. HPV-Risk Assay) wurden basierend auf der statistischen Methode einer Nichtunterlegenheitsanalyse bestimmt.

Die klinische Sensitivität wurde anhand von 106 Proben von Frauen mit histologisch bestätigtem CIN2+-Status (d. h. Fällen) bestimmt. Das Durchschnittsalter der Frauen lag bei 38 Jahren (Bereich 30–58 Jahre). Die Sensitivität des NeuMoDx HPV Assay wurde als 92,5 % (98/106; 95%-KI: 85,696,2) bestimmt und war vergleichbar mit der des Referenz-Assays HPV-Risk (Tabelle 14). Die relative Sensitivität des NeuMoDx HPV Assay verglichen mit der des HPV-Risk Assay lag bei 1,00 mit einem Ergebniswert der Nichtunterlegenheitsanalyse von P = 0,0009.

Die klinische Spezifität wurde anhand von 842 zytologischen Flüssigproben (SurePath) aus der Screeningpopulation von Frauen mit normaler Zytologie bestimmt, bei denen innerhalb einer zweijährigen Nachsorgeperiode keine Anzeichen für CIN2+ nachweisbar waren. Das Durchschnittsalter der Frauen lag bei 43 Jahren (Bereich 30–59 Jahre) und 98,6 % (935/948) der getesteten Proben lieferten gültige Ergebnisse. Die Spezifität des NeuMoDx HPV Assay betrug 93,5 % (775/829; 95%-KI: 91,6–95,0) und die des Referenz-Assays HPV-Risk 91,9 % (762/829; 95%-KI: 89,9–93,6) (Tabelle 15). Die relative Spezifität des NeuMoDx HPV Assay verglichen mit der des HPV-Risk Assay lag bei 1,02 mit einem Ergebniswert der Nichtunterlegenheitsanalyse von P < 0,0001.

Tabelle 14. Ergebnisse der klinischen Sensitivität für Proben von Frauen mit bestätigter CIN2+ in SurePath-Entnahmemedium

Referenztest	NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	GESAMT
POS	97	1	98
NEG	1	7	8
GESAMT	98	8	106
Klinische Sensitivität des NeuMoDx HPV Assay: 92,5 % (95%-KI: 85,6-96,2)			

Tabelle 15. Ergebnisse der klinischen Spezifität für Proben von Frauen mit normaler Zytologie und ohne bestätigte CIN2+ in SurePath-Entnahmemedium

Referenztest	NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	GESAMT
POS	48	6	54
NEG	19	756	775
GESAMT	67	775	842
Klinische Spezifität des NeuMoDx HPV Assay: 93,5% (95-%-KI: 91,6-95,0)			

Klinische Reproduzierbarkeit

Die laborinterne Reproduzierbarkeit und die laborübergreifende Übereinstimmung der Testergebnisse für in PreservCyt entnommene klinische Proben wurden gemäß den internationalen Richtlinien über die Anforderungen an HPV-Tests für das Screening auf Gebärmutterhalskrebs evaluiert.¹⁶ Die laborinterne Reproduzierbarkeit für Zervixproben über den Zeitraum der Studie hinweg lag bei 96,0 % (484/504; 95-%-KI: 94,3–97,4), mit einem Kappa-Wert (κ) von 0,90 (Tabelle 16). Die Ergebnisse dieser Testzeitpunkte wurden dann auf ihre Übereinstimmung mit den Ergebnissen eines anderen Teststandorts untersucht. Die resultierenden laborübergreifenden Übereinstimmungen wurden als 96,4 % (486/504; 95-%-KI: 94,8–97,7) mit $\kappa = 0,91$ und 94,4 % (476/504; 95-%-KI: 92,5–96,1) mit $\kappa = 0,86$ für den jeweils ersten bzw. zweiten Testzeitpunkt ermittelt (Tabelle 17).

Tabelle 16. Laborinterne Reproduzierbarkeit für den NeuMoDx HPV Assay im zeitlichen Verlauf

NeuMoDx HPV Assay – Testergebnis 1	NeuMoDx HPV Assay – Testergebnis 2		
	NEG	POS	GESAMT
NEG	347	13	360
POS	7	137	144
GESAMT	354	150	504
Reproduzierbarkeit = 96,0 % (95-%-KI: 94,3–97,4); $\kappa = 0,90$			

Tabelle 17. Laborübergreifende Übereinstimmung des NeuMoDx HPV Assay

NeuMoDx HPV Assay – Externer Test	NeuMoDx HPV Assay – Internes Testergebnis 1			NeuMoDx HPV Assay – Internes Testergebnis 2		
	NEG	POS	GESAMT	NEG	POS	GESAMT
NEG	355	13	368	347	21	368
POS	5	131	136	7	129	136
GESAMT	360	144	504	354	150	504
96,4 % Übereinstimmung (95-%-KI: 94,8–97,7); $\kappa = 0,91$			94,4 % Übereinstimmung (95-%-KI: 92,5-96,1); $\kappa = 0,86$			

LITERATUR

1. Walboomers J, Jacobs M, Manos M, Bosch F, Kummer J, Shah K, Snijders P, Peto J, Meijer C, Munoz N. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J.Pathol.* 1999;189(1):12-9.
2. Munoz N, Bosch F, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah K, Snijders P, Meijer C. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N.Engl.J.Med.* 2003;348(6):518-27.
3. Bosch F, Lorincz A, Munoz N, Meijer C, Shah K. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J.Clin.Pathol.* 2002;55(4):244-65.
4. Snijders P, Steenbergen R, Heideman D, Meijer C. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. *J.Pathol.* 2006;208(2):152-64.
5. Vinokurova S, Wentzensen N, Kraus I, Klaes R, Driesch C, Melsheimer P, Kisseljov F, Durst M, Schneider A, von Knebel DM. Type-dependent integration frequency of human papillomavirus genomes in cervical lesions. *Cancer Res.* 2008;68(1):307-13.
6. Kraus I, Driesch C, Vinokurova S, Hovig E, Schneider A, von Knebel D, Durst M. The majority of viral-cellular fusion transcripts in cervical carcinomas cotranscribe cellular sequences of known or predicted genes. *Cancer Res.* 2008;68(7):2514-22.
7. Horner S, DeFilippis R, Manuelidis L, DiMaio D. Repression of the human papillomavirus E6 gene initiates p53-dependent, telomerase-independent senescence and apoptosis in HeLa cervical carcinoma cells. *J.Virol.* 2004;78(8):4063-73.
8. Butz K, Ristriani T, Hengstermann A, Denk C, Scheffner M, Hoppe-Seyler F. siRNA targeting of the viral E6 oncogene efficiently kills human papillomavirus-positive cancer cells. *Oncogene* 2003;22(38):5938-45.
9. Baseman, J. G. & Koutsky, L. A. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J. Clin. Virol.* 32 (Suppl. 1), S16–S24 (2005).
10. Nobbenhuis M, Helmerhorst T, van den Brule A, Rozendaal L, Voorhorst F, Bezemer P, Verheijen R, Meijer C. Cytological regression and clearance of high-risk human papillomavirus in women with an abnormal cervical smear. *Lancet.* 2001;358(9295):1782-1783.
11. Rijkaart D, Berkhof J, Rozendaal L, van Kemenade F, Bulkman N, Heideman D, Kenter G, Cuzick J, Snijders P, Meijer C. 2012. Human papillomavirus testing for the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cancer: final results of the POBASCAM randomized controlled trial. *Lancet Oncol.* 13:78–88.
12. Sankaranarayanan R, Nene B, Shastri S, Jayant K, Muwonge R, Budukh A, Hingmire S, Malvi S, Thorat R, Kothari A, Chinoy R, Kelkar R, Kane S, Desai S, Keskar V, Rajeshwarkar R, Panse N, Dinshaw K. 2009. HPV screening for cervical cancer in rural India. *N. Engl. J. Med.* 360:1385–1394
13. Cubie H, Cuschieri K, Understanding HPV tests and their appropriate applications, *Cytopathology* 24 (5) (2013) 289–308.
14. Arbyn M, Ronco G, Anttila A, Meijer C, Poljak M, Ogilvie G, Koliopoulos G, Naucler P, Sankaranarayanan R, Peto J, Evidence regarding human papillomavirus testing in secondary prevention of cervical cancer, *Vaccine* 30 (Suppl. 5) (2012) F88–99.
15. Arbyn M, Roelens J, Simoens C, Buntinx F, Paraskevaidis E, Martin-Hirsch P, Prendiville W, Human papillomavirus testing versus repeat cytology for triage of minor cytological cervical lesions, *Cochrane Database Syst. Rev.* (3) (2013)
16. Meijer C, Berkhof J, Castle P, Hesselink A, Franco E, Ronco G, Arbyn M, Bosch F, Cuzick J, Dillner J, Heideman D, Snijders P. 2009. Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older. *Int.J.Cancer* 124:516–520.
17. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
18. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

MARKENNAMEN

NeuMoDx™ und NeuDry™ sind Marken von NeuMoDx Molecular, Inc.














Hamilton® ist eine eingetragene Marke der Hamilton Company.

PreservCyt® ist eine eingetragene Marke der Hologic, Inc.

SurePath™ ist eine Marke von Becton Dickinson (BD).

Alle anderen Produktbezeichnungen, Marken und eingetragenen Marken, die in diesem Dokument ggf. auftreten, sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber.

SYMBOLSCHLÜSSEL

R only	Nur zur Anwendung durch Fachpersonal		Zulässiger Temperaturbereich
	Hersteller		Nicht zur Wiederverwendung
	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum		Inhalt ausreichend für <n> Tests
	Autorisierter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft		Gebrauchsanweisung beachten
	Katalognummer		Vorsicht
	Chargencode		Biologische Risiken
	Verfallsdatum		CE-Kennzeichnung



NeuMoDx Molecular, Inc.
1250 Eisenhower Place
Ann Arbor, MI 48108, USA

Sponsor (AUS):
QIAGEN Pty Ltd
Level 2 Chadstone Place
1341 Dandenong Rd
Chadstone VIC 3148
Australia



Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands



Technischer Support/Vigilanzberichterstattung: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents