

REF 617007 NeuMoDx™ HPV Test Strip

R only

POZOR: Samo za izvoz v ZDA

IVD Za diagnostično uporabo *in vitro* s sistemoma NeuMoDx 288 in NeuMoDx 96 Molecular Systems

 Elektronska različica je na voljo na strani www.giaagen.com/neumodx-ifu

Za podrobna navodila glejte Priročnik za uporabo sistema NeuMoDx 288 Molecular System; št. dela 40600108

Za podrobna navodila glejte Priročnik za uporabo sistema NeuMoDx 96 Molecular System; št. dela 40600317

NAMEN UPORABE

Test NeuMoDx HPV Assay, ki se izvaja na sistemih NeuMoDx 96 Molecular System in NeuMoDx 288 Molecular System (NeuMoDx System(s)), je hitri, avtomatiziran diagnostični *in vitro* test amplifikacije nukleinske kisline s PCR v realnem času za kvalitativno zaznavanje DNK tipov človeškega papilomavirusa (HPV) z visokim tveganjem v primerkih materničnega vratu. Test specifično prepozna HPV16 in HPV18 ter hkrati zaznava druge tipe z visokim tveganjem (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 in 68) pri klinično pomembnih stopnjah okužbe. Primerki materničnega vratu, ki jih je mogoče testirati s testom NeuMoDx HPV Assay, vključujejo primerke materničnega vratu, ki jih odvzame klinični zdravnik s pomočjo pripomočka, podobnega ščetki/metlici, in so shranjeni v medijih za tekočinsko citologijo PreservCyt® (HOLOGIC) in SurePath™ (BD). Test je namenjen za uporabo kot primarni test pri presejanju žensk, starih 21 let in več, glede tveganja (pred) raka materničnega vratu, da bi ugotovili potrebo po napotitvi na kolposkopijo ali druge nadaljnje postopke, in kot nadaljnji test za ženske z rezultati testa PAP z atipičnimi skvamoznimi celicami nedoločene pomena (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) ali skvamozno intraepitelno lezijo (Low-grade Squamous Intra-epithelial Lesion, LSIL) nizke stopnje za določitev potrebe po napotitvi na kolposkopijo ali druge nadaljnje postopke. Te informacije se lahko skupaj z oceno zdravnika o citologiji, anamnezo, drugimi dejavniki tveganja in strokovnimi smernicami uporabijo za vodenje zdravljenja bolnice.

Ta izdelek je namenjen profesionalnim uporabnikom, kot so tehniki in laboratoriji, ki so usposobljeni za *in vitro* diagnostične postopke in molekularno biološke tehnike.

POVZETEK IN RAZLAGA

Rak materničnega vratu in njegove predhodnice lezij (cervikalna intraepitelna neoplazija (Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN)) povzročajo vztrajno okužbo z visoko tveganjem tipom človeškega papilomavirusa (Human Papillomavirus, HPV).¹⁻³ HPV pripada družini Papillomaviridae in so majhni virusi DNK z dvojno vijačnico. Krožni genom ima velikost približno 7,9 kilobaz v velikosti. Ugotovljenih je bilo več kot 100 vrst HPV, od katerih so nekatere vrste HPV, poznane kot HPV z visokim tveganjem (High-Risk HPV, hrHPV), kot sta HPV 16 in 18, povezane z indukcijo lezij sluznice, ki lahko napreduje do malignosti. Virusni genom vsebuje zgodnje (Early, E) in pozne (Late, L) gene, ki kodirajo beljakovine, potrebne za zgodnjo in pozno fazo življenjskega cikla HPV. Genska produkta E6 in E7 vrste hrHPV imata karcinogene lastnosti in sta potrebna za maligno transformacijo gostiteljske celice.⁴ Maligno napredovanje je pogosto povezano z virusno integracijo v genom gostiteljske celice.⁵ Integracija povzroči prekinitve virusnega genoma na območju, ki se lahko razteza od E1 do odprtega bralnega okvira L1.⁶ To ima lahko posledice za amplifikacijo posredovane PCR virusne DNK v teh območjih. Ker je od nenehne ekspresije virusnih onkoproteinov odvisna ne le iniciacija, temveč tudi vzdrževanje transformiranega fenotipa, se virusno območje E6/E7 nenehno zadržuje v integriranih virusnih genomih pri rakih materničnega vratu.^{6,7,8}

Rak materničnega vratu je redek zaplet okužbe s HPV; doživljenjsko tveganje za okužbo s hrHPV po ocenah znaša približno 80 %, veliko večino okužb pa odpravi imunski sistem gostitelja in ne pride do povečanja lezij.⁹ Po odpravi okužbe s HPV se lezije CIN navadno zmanjšajo.¹⁰

Testiranje na HPV DNK zagotavlja boljšo zaščito pred rakom materničnega vratu in njegovimi predhodnimi lezijami CIN v primerjavi s citomorfološko analizo (tj. Pap razmaz) v vzorcih materničnega vratu pri primarnem pregledu pri ženskah, starih 30 let in več, ter pri triazi žensk, starih 21 let in več, citologijo materničnega vratu ASC-US ali LSIL (atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US).¹¹⁻¹⁵ Primarni pregled materničnega vratu na osnovi HPV se izvaja v več državah po vsem svetu, objavljene pa so tudi mednarodne smernice za testiranje HPV DNK za primarni pregled raka materničnega vratu.¹⁶ Test NeuMoDx HPV Assay cilja na ohraneno območje znotraj gena E7 genoma HPV in s tem premaguje potencial lažno negativne rezultate po virusni integraciji v gostiteljski genom.

NAČELA POSTOPKA

Test NeuMoDx HPV Assay združuje samodejno ekstrakcijo in amplifikacijo/zaznavo DNK s PCR v realnem času. Primerki materničnega vratu se odvzamejo v tekoči citološki raztopini in nato prenesejo v kompatibilno sekundarno epruveto s primerkom, označijo se s črtno kodo in dajo v sistem NeuMoDx System. Sistem NeuMoDx System samodejno aspirira alikvot primerka, da ga zmeša s puflom za lizo NeuMoDx Lysis Buffer 2 ter z agenti, ki jih vsebuje ekstrakcijska plošča NeuMoDx Extraction Plate, za začetek obdelave. Sistem NeuMoDx System avtomatizira in integrira ekstrakcijo in koncentracijo DNK, pripravo reagenta in amplifikacijo/zaznavo nukleinskih kislin tarčnih sekvenc s pomočjo PCR v realnem času. DNK β-globina (βG), ki je prisoten v vsakem pravilno zbranem primerku, služi za nadzor endogenega vzorca in pomaga spremljati prisotnost inhibitornih snovi ter za okvare sistema, procesa ali reagenta. Ko so primerki in potrebni potrošni materiali enkrat naloženi v sistem NeuMoDx System, upravljavcu ni več treba posredovati.

Sistem NeuMoDx System samodejno izvede lizo, ekstrakcijo DNK in odstranjevanje inhibitorjev. Sproščene nukleinske kisline ujamejo paramagnetni delci. Delci z vezano nukleinsko kislino se naložijo v kartušo NeuMoDx Cartridge, kjer se nevezani elementi izperejo s pralnim reagentom NeuMoDx Wash Reagent. Vezana DNK se nato izluži z reagentom za sprostitvev NeuMoDx Release Reagent. Sistem NeuMoDx System uporabi izluženo DNK za rehidracijo lastniških amplifikacijskih reagentov NeuDry™, ki vsebujejo vse potrebne komponente za 40 ciklov amplifikacije 15 tarč HPV (če so prisotne) kot tudi tarče β-globina. To omogoči hkratno amplifikacijo in zaznavanje tarč in kontrolnih sekvenc DNK. Po rekonstituciji posušenih reagentov PCR NeuMoDx System sprosti pripravljeno mešanico za PCR v eno od komor PCR (na vsak primerki) kartuše NeuMoDx Cartridge.

Amplifikacija in zaznava sekvenc kontrole in tarče (če so prisotne) se izvede v komori PCR. Kartuša NeuMoDx Cartridge je zasnovana tako, da vsebuje amplikon po PCR, tako da praktično odpravlja tveganje kontaminacije po amplifikaciji.

Amplificirane tarče so zaznane v realnem času s pomočjo kemikalij v šobi za hidrolizo (splošno imenovano kemija TaqMan®) z uporabo fluorogenih oligonukleotidnih molekul šobe, specifičnih za amplikone za svoje zadevne tarče. TaqMan šobe so sestavljene iz fluorofora, ki je kovalentno vezan na 5'-koncu oligonukleotidne šobe in dušilec na 3'-koncu. Dokler je šoba nedotaknjena, sta fluorofor in dušilec v bližini, zaradi česar lahko molekula dušilca zaduši fluorescenco, ki jo fluorofor oddaja prek Försterjevega resonančnega prenosa energije (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Šobe TaqMan so zasnovane tako, da se prilegajo znotraj regije DNK, ki jo amplificira specifični komplet primerjev. Ko polimeraza DNK Taq razširi primer in sintetizira novo verigo, aktivnost eksonukleaze v smeri 5' proti 3' koncu polimeraze Taq DNA degradira šobo, ki se prilega predlogi. Degradacija šobe sprosti fluorofor in zlomi bližino dušilca ter tako premeta učinek dušenja zaradi FRET ter omogoči zaznavanje fluorofora. Nastali fluorescenčni signal, zaznan v PCR termopomnoževalniku sistema NeuMoDx System je neposredno proporcionalen s sproščenim fluoroforom, možno je vzpostaviti korelacijo s količino prisotne tarče.

Šoba TaqMan, označena s fluoroforom na koncu 5' in temnim dušilcem na koncu 3' se uporablja za zaznavanje HPV 16 (470/510 nm), HPV 18 (625/660 nm) in preostale klinično pomembne vrste z visokim tveganjem (High Risk, HR) («HPV Other» (HPV drugo); 530/555 nm). Za zaznavanje β-globina je šoba TaqMan označena z nadomestnim fluorescentnim barvilom (585/610 nm) na koncu 5' in s temnim dušilcem na koncu 3'. Programska oprema sistema NeuMoDx System nadzoruje fluorescentni signal, ki ga oddajajo šobe TaqMan na koncu vsakega amplifikacijskega cikla. Ko je amplifikacija končana, programska oprema NeuMoDx System analizira podatke in sporoči rezultat (POSITIVE (POZITIVNO)/NEGATIVE (NEGATIVNO)/INDETERMINATE (NEDOLOČEN)/UNRESOLVED (NEREŠENO)/NO RESULT (NI REZULTATA)).

REAGENTI/POTROŠNI MATERIAL

Priloženi materiali

REF.	Vsebina	Enote na paket	Testi na enoto	Testi na paket
617007	NeuMoDx HPV Test Strip <i>Posušeni reagent PCR, ki vsebujejo specifično šobo TaqMan® in primerje za HPV βG</i>	6	16	96

Potrebni materiali, ki niso priloženi (na voljo ločeno pri družbi NeuMoDx)

REF.	Vsebina
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Posušeni paramagnetni delci, posušen litični encim in kontrola β-globina</i>
400500	NeuMoDx Lysis Buffer 2
401600	NeuMoDx Viral Lysis Buffer*
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Konice Hamilton® CO-RE/CO-RE II (300 µl) s filtri
235905	Konice Hamilton CO-RE / CO-RE II (1000 µl) s filtri

*Potrebno za obdelavo predhodno obdelanih vzorcev SurePath

Potrebni instrumenti

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] ali NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200]

OPOZORILA IN VARNOSTNI UKREPI

- NeuMoDx HPV Test Strip je namenjen samo za diagnostično uporabo *in vitro* s sistemi NeuMoDx Systems.
- Reagentov oziroma potrošnega materiala ne uporabljajte po navedenem roku uporabe.
- Ne uporabljajte reagentov, če je varnostni pečat prelomljen oziroma če je embalaža ob prejemu poškodovana.
- Ne uporabljajte potrošnega materiala ali reagentov, če je zaščitna vrečka ob prejemu odprta ali poškodovana.
- Minimalni volumen primerka sekundarnih alikvotov je odvisen od velikosti epruvete/prenosnika za epruvete s primerki, kot je določeno spodaj. Če je volumen pod navedenim minimumom, se lahko pojavi napaka »Quantity Not Sufficient« (Količina ni zadostna).
- Če so primerki shranjeni pri nepravilnih temperaturah ali dlje od navedenega obdobja shranjevanja, so rezultati lahko neveljavni ali napačni.

- S sistemi NeuMoDx Molecular Systems se lahko uporabljajo samo primerki SurePath, ki so bili predhodno obdelani s pufrom Viral Lysis Buffer. Čisti primerki lahko povzročijo neveljavne ali neoptimalne rezultate.
- V validacijskih študijah, ki so bile izvedene za oceno stabilnosti primerka v sistemu, so opazili do 20 % izhlapevanje primerka zaradi visoke hlapljivosti medija za zbiranje PreservCyt. Pričakuje se, da to ne bo negativno vplivalo na rezultate vzorcev, vendar jih je treba upoštevati pri pripravi pripravkov za zapoznelo obdelavo. Pri predhodno obdelanih primerkih SurePath niso opazili večjega izhlapevanja.
- Preprečite kontaminacijo katerega koli reagenta in potrošnega materiala z mikrobi ali dezoksiribonukleazo (DNaza). Priporočena je uporaba sterilnih pipet za prenos brez Dnaze pri uporabi sekundarnih epruvet. Za vsak primerek uporabite novo pipeto.
- Kartušice NeuMoDx Cartridge po amplifikaciji ne prijemajte oziroma je ne odlopite, da se izognete kontaminaciji. Kartušice NeuMoDx Cartridge v nobenem primeru ne odstranjujte iz zabojskih ohišij za biološke odpadke (NeuMoDx 288 Molecular System) oziroma koša za biološke odpadke (NeuMoDx 96 Molecular System). Kartušice NeuMoDx Cartridge je zasnovana tako, da preprečuje kontaminacijo.
- V primerih, kjer teste PCR z odprtimi epruvetami izvaja tudi laboratorij, je potrebno zagotoviti, da trakovi NeuMoDx HPV Test Strip, dodatni potrošni material in reagenti, potrebni za testiranje, osebna zaščitna oprema kot so rokavice in laboratorijskih plašči ter NeuMoDx System niso kontaminirani.
- Pri ravnanju z reagenti in potrošnim materialom NeuMoDx uporabljajte čiste nitrilne rokavice brez pudra. Bodite previdni, da se ne dotaknete zgornje površine NeuMoDx Cartridge, tesnilne folije površine traku NeuMoDx HPV Test Strip in ekstrakcijske plošče NeuMoDx Extraction Plate oziroma zgornje površine NeuMoDx Lysis Buffer 2; s potrošnim materialom in reagenti ravnajte tako, da se dotikate samo stranskih površin.
- Varnostni listi (Safety Data Sheets, SDS) so za vsak reagent (kot je primerno) na voljo na spletni strani www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Po izvedbi testa si temeljito umijte roke.
- Pipete ne uporabljajte z usti. Ne kadite, pijte ali jejte v območjih, kjer ravnate s primerki ali reagenti.
- S primerki vedno ravnajte, kot da so kužni, in v skladu z varnimi postopki v laboratorijih, kot so tisti, opisani v *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁷ in dokumentu CLSI M29-A4.¹⁸
- Neuporabljene reagente in odpadke zavrzite v skladu z državnimi, zveznimi, okrajnimi in lokalnimi predpisi.
- Ne uporabljajte ponovno.

SHRANJEVANJE, RAVNANJE IN STABILNOST IZDELKA

- NeuMoDx HPV Test Strips so stabilni v prvotni embalaži do navedenega roka uporabe na oznaki izdelka, ko je le-ta shranjen pri temperaturi od 15 do 23 °C.
- Ne uporabljajte nobenih testnih izdelkov, ki so bili predhodno naloženi na *drug* sistem NeuMoDx System.
- Ko je naložen, lahko NeuMoDx HPV Test Strip ostane v sistemu NeuMoDx System 14 dni. Programska oprema spremlja preostali rok uporabnosti naloženih testnih trakov in ga sporoča uporabniku v realnem času. Sistem bo pozval k odstranitvi testnega traku, ki je v uporabi dlje, kot je dovoljeno.

ZBIRANJE, RAVNANJE, SKLADIŠČENJE IN TRANSPORT PRIMERKA

1. Test NeuMoDx HPV Assay je namenjen uporabi s vzorci, pridobljenimi iz primerkov materničnega vratu. Potrjena medija za zbiranje primerkov materničnega vratu sta PreservCyt in SurePath. Upoštevajte navodila proizvajalca pripomočka za zbiranje primerkov za pripravo in skladiščenje.
2. Primerke SurePath je treba pred uporabo predhodno obdelati v skladu s posebnimi navodili v nadaljevanju.
3. **Vzorci, ki se shranjujejo v hladilniku, je treba za pravilno delovanje sistema pustiti na sobni temperaturi vsaj 30 minut pred obdelavo.**
4. Pripravljeni primerki materničnega vratu se lahko shranjujejo v sistemu NeuMoDx System do 24 ur pred pričetkom obdelave. Če je potrebno daljše obdobje shranjevanja, priporočamo da se primerki shranijo v skladu z naslednjim:

Primerki materničnega vratu v mediju **PreservCyt**:

 - a. Do 6 tednov po vzorčenju, če se hranijo pri 15–25 °C
 - b. Do 3 mesece po vzorčenju, če se hranijo pri 2–8 °C
 - c. Do 8 let, če se hranijo pri -80 °C. Če so primerki zamrznjeni, pustite, da se pri sobni temperaturi (15–30 °C) popolnoma odtalijo in jih nato zavrtite, da nastane enakomerno porazdeljen vzorec.

Primerki materničnega vratu v mediju **SurePath**:

 - a. Do 30 dni po vzorčenju, če se hranijo pri 2–30 °C
 - b. Do 180 dni po vzorčenju, če se hranijo pri 2–8 °C
 - c. Do 180 dni, če se hranijo pri -20 °C. Če so primerki zamrznjeni, pustite, da se pri sobni temperaturi (15–30 °C) popolnoma odtalijo in jih nato zavrtite, da nastane enakomerno porazdeljen vzorec.
5. Če bodo primerki poslani, jih je treba zapakirati in označiti v skladu z veljavnimi državnimi in/ali mednarodnimi predpisi.
6. Primerke jasno označite in navedite, da so namenjeni za testiranje HPV.

NAVODILA ZA UPORABO

Priprava testa – PRESERVCYT

1. Oznako s črtno kodo primerka namestite na epruveto s primerkom, ki je združljiva s sistemom NeuMoDx System.
2. Postavite epruveto, označeno s črtno kodo, v prenosnik za epruvete s primerki in poskrbite, da bo pred nalaganjem v NeuMoDx System odstranjen pokrov.
3. Alikvot primerka glede na volumne, opredeljene v nadaljevanju, za vzorce **PreservCyt**:
 - Prenosnik za epruvete s primerki (za 32 epruvet): Med 11 mm in 14 mm premera ter med 60 mm in 120 mm višine; minimalni volumen pri polnjenju znaša = 400 µl
 - Prenosnik za epruvete s primerki (za 24 epruvet): Med 14,5 mm in 18 mm premera ter med 60 mm in 120 mm višine; minimalni volumen pri polnjenju znaša = 850 µl
 - Prenosnik za epruvete s primerki z majhnim volumnom (za 32 epruvet): 1,5-ml epruveta za mikrocentrifugiranje s stožčastim dnom; minimalni volumen pri polnjenju znaša = 250 µl

Priprava testa – SUREPATH

1. Primerek SurePath obdelajte s pufrom NeuMoDx Viral Lysis Buffer z volumnom v razmerju 1 : 1 in dobro premešajte. Uporabite ustrezen volumen, da zagotovite minimalni volumen primerka, določen spodaj.
2. Inkubirajte pri 90 °C 20 minut in nato pred nadaljevanjem počakajte, da se primerek segreje na sobno temperaturo.
3. Oznako s črtno kodo primerka namestite na epruveto s primerkom, ki je združljiva s sistemom NeuMoDx System.
4. Postavite epruveto, označeno s črtno kodo, v prenosnik za epruvete s primerki in poskrbite, da bo pred nalaganjem v NeuMoDx System odstranjen pokrov.
5. Alikvot primerka glede na volumne, opredeljene v nadaljevanju, za vzorce **SurePath**:
 - Prenosnik za epruvete s primerki (za 32 epruvet): Med 11 mm in 14 mm premera ter med 60 mm in 120 mm višine; minimalni volumen pri polnjenju znaša = 450 µl
 - Prenosnik za epruvete s primerki (za 24 epruvet): Med 14,5 mm in 18 mm premera ter med 60 mm in 120 mm višine; minimalni volumen pri polnjenju znaša = 800 µl
 - Prenosnik za epruvete s primerki z majhnim volumnom (za 32 epruvet): 1,5-ml epruveta za mikrocentrifugiranje s stožčastim dnom; minimalni volumen pri polnjenju znaša = 300 µl

Delovanje sistema NeuMoDx System

Za podrobna navodila glejte Priročnik za uporabo sistemov NeuMoDx 288 in 96 Molecular Systems (št. dela 40600108 in 40600317)

1. Naložite naročilo testa v sistem NeuMoDx System v skladu z zelenim tipom primerka.
 - Vzorce PreservCyt testirate tako, da primerek opredelite kot »Cytology« (Citološki).
 - Predhodno obdelane vzorce SurePath testirate tako, da primerek opredelite kot »UserSpecified1«.

Če to v naročilu testa ni opredeljeno, bo privzeto uporabljen tip primerka PreservCyt.
2. Enega ali več prenosnikov testnih trakov NeuMoDx System Test Strip Carrier napolnite s testnimi trakovi NeuMoDx HPV Test Strip in uporabite zaslon na dotik, da jih naložite v sistem NeuMoDx System.
3. Če to zahteva programska oprema NeuMoDx System, dodajte potrebno količino potrošnega materiala v vsebnike potrošnega materiala NeuMoDx System in uporabite zaslon na dotik, da prenosnik(e) naložite v NeuMoDx System.
4. Če to zahteva programska oprema NeuMoDx System, zamenjajte NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, spraznite odpadke pri polnjenju, zabojnik za biološke odpadke (samo pri NeuMoDx 288 Molecular System), koš za odpadne konice (samo NeuMoDx 96 Molecular System) ali koš za biološke odpadke (samo NeuMoDx 96 Molecular System), kot je to potrebno.
5. Epruveto(-e) s primerkom naložite v prenosnike za epruvete s primerkom in poskrbite, da so pokrovi odstranjeni z vseh epruvet.
6. Prenosnike za epruvete s primerki postavite na polico samodejnega nalagalnika in uporabite zaslon na dotik, da naložite prenosnike v NeuMoDx System. To bo sprožilo obdelavo naloženih primerkov za opredeljene teste, če je v sistemu predhodno nastavljen veljaven vrstni red testiranja.

OMEJITVE

1. Trak NeuMoDx HPV Test Strip se lahko uporablja samo v sistemih NeuMoDx Systems.
2. Delovanje traku NeuMoDx HPV Test Strip je bilo potrjeno za uporabo z vzorci, pridobljenimi iz primerkov materničnega vratu (s strganjem) v mediju PreservCyt, SurePath ali enakovrednem citološkem mediju. Uporaba testnega traku NeuMoDx HPV Test Strip z drugimi viri ni bila ocenjena, zato karakteristike delovanja pri uporabi drugih tipov primerkov ali medijev za zbiranje niso znane.
3. S sistemi NeuMoDx Molecular Systems se lahko uporabljajo samo primerki SurePath, ki so bili predhodno obdelani s pufrom Viral Lysis Buffer. Čisti primerki lahko povzročijo neveljavne ali neoptimalne rezultate.
4. Ker je zaznavanje HPV odvisno od količine tkiva, prisotnega v vzorcu, so zanesljivi rezultati odvisni od ustreznega zbiranja, ravnanja in shranjevanja primerkov.

5. Do napačnih rezultatov lahko pride zaradi nepravilnega zbiranja, ravnanja, shranjevanja primerkov ali tehnične napake ali zaradi zmede pri epruvetah s primerkom. Poleg tega se lahko pojavijo lažno negativni vzorci, če je število virusnih delcev v vzorcu pod mejo zaznave testa NeuMoDx HPV Assay.
6. Sistem NeuMoDx System lahko uporablja izključno osebje, ki je bilo usposobljeno za uporabo sistema NeuMoDx System.
7. Če se ne amplifizirajo niti tarče HPV niti tarče β -globina, bo javljen neveljaven rezultat (Indeterminate (Nedoločen), No Result (Ni rezultata) ali Unresolved (Nerešeno)), test pa bo treba ponoviti.
8. Pozitiven rezultat ne pomeni nujno prisotnosti živega HPV. Vseeno pa pozitiven rezultat predvideva prisotnost DNK HPV.
9. Brisanje ali mutacije v shranjenih regijah, ki so tarča testa NeuMoDx HPV Assay, lahko vplivajo na zaznavo ali lahko privedejo do napačnih rezultatov.
10. Rezultati testa NeuMoDx HPV Assay se lahko uporabljajo kot dodatek h kliničnim opazovanjem in drugim razpoložljivim podatki, ki jih ima na voljo zdravnik.
11. Priporočene so dobre laboratorijske prakse, vključno z menjavo rokavic med ravnanjem s primerki pacientov, da preprečite kontaminacijo.

OBDELAVA REZULTATOV

Razpoložljive rezultate si je mogoče ogledati oziroma natisniti na zavihku »Results« (Rezultati) v oknu Results (Rezultati) na zaslonu na dotik sistema NeuMoDx System. Rezultate testa NeuMoDx HPV Assay samodejno ustvari programska oprema NeuMoDx System z uporabo algoritma za odločanje in parametrov za obdelavo rezultatov, navedenih v definicijski datoteki testa NeuMoDx HPV Quant Assay (HPV ADF). Rezultat testa NeuMoDx HPV Assay je lahko Negative (Negativno), Positive (Pozitivno), Indeterminate (Nedoločen) (IND), No Result (Ni rezultata) (NR) ali Unresolved (Nerešeno) (UNR) na podlagi statusa amplifikacije tarč in kontrole obdelave vzorca. Rezultati so sporočeni na podlagi algoritma odločanja ADF in povzeti spodaj v *preglednici 1*.

Določene so bile mejne vrednosti Ct za vsako od tarč, ki so prikazane v spodnji *preglednici 2* in potrjujejo klinično pomembnost testa. V nekaterih primerih lahko opazite krivuljo amplifikacije tarče, vendar je prikazan rezultat Negative (Negativno). To je skladno z obdelavo rezultatov in merili za mejne vrednosti, ki jih je potrdila družba NeuMoDx.

Rezultate, dobljene s testom NeuMoDx HPV Test, mora oceniti zdravnik v povezavi z drugimi ugotovitvami.

Preglednica 1. Povzetek algoritma za odločanje testa HPV

REZULTAT	HPV16	HPV18	HPV drugo	KONTROLA OBDELAVE (β G)
POSITIVE (POZITIVNO)	AMPLIFIED (AMPLIFICIRANO)	N/A (Ni na voljo)^	N/A (Ni na voljo)^	N/A (Ni na voljo)^
POSITIVE (POZITIVNO)	N/A (Ni na voljo)^	AMPLIFIED (AMPLIFICIRANO)	N/A (Ni na voljo)^	N/A (Ni na voljo)^
POSITIVE (POZITIVNO)	N/A (Ni na voljo)^	N/A (Ni na voljo)^	AMPLIFIED (AMPLIFICIRANO)	N/A (Ni na voljo)^
NEGATIVE (NEGATIVNO)	NOT AMPLIFIED (NI AMPLICIRANO)	NOT AMPLIFIED (NI AMPLICIRANO)	NOT AMPLIFIED (NI AMPLICIRANO)	AMPLIFIED (AMPLIFICIRANO)
IND (NEDOLOČENO)	NOT AMPLIFIED, System Error Detected, Sample Processing Completed (Ni amplificirano, zaznana napaka sistema, obdelava vzorca končana)			
IND/NR* (NEDOLOČENO/NI REZULTATA)	NOT AMPLIFIED, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Ni amplificirano, zaznana napaka sistema, obdelava vzorca prekinjena)			
UNR (Nerešeno)	NOT AMPLIFIED, No System Errors Noted (NI AMPLICIRANO, sistemske napake niso zabeležene)			

* O zastavici No Result (Ni rezultata) se poroča samo v programski opremi sistema NeuMoDx System z različico 1.8 ali novejšo.

^ N/A = Ni na voljo

Preglednica 2. Mejne vrednosti Ct za pozitivne odločitve

REZULTAT	HPV16	HPV18	HPV drugo	KONTROLA OBDELAVE (β G)
POSITIVE (POZITIVNO)	33	33	30	N/A*

* N/A = ni na voljo

Nadzor kakovosti

Lokalni predpisi običajno določajo, da je laboratorij odgovoren za nadzorne postopke, ki spremljajo točnost in preciznost celotnega analitičnega postopka, in mora določiti število, vrsto in pogostost preskušanja kontrolnih materialov z uporabo preverjenih specifikacij učinkovitosti za nespremenjen, odobren testni sistem.

Uporabniško opredeljene (zunanje) kontrole

1. Laboratorij mora izbrati in potrditi ustrezne uporabniško opredeljene kontrole v skladu z lokalnimi smernicami. Upoštevajte, da morajo uporabniško opredeljene kontrole ustrezati istim specifikacijam najmanjšega volumna kot zgoraj navedeni klinični vzorci na podlagi velikosti prenosnika za epruvete s primerkom.
2. V primeru uporabniško opredeljene kontrole obdelave označene kontrole postavite na prenosnik za epruvete s primerkom in uporabite zaslon na dotik, da prenosnik naložite v NeuMoDx System s police samodejnega nalagalnika. Ko je definiran, bo sistem NeuMoDx System prepoznal črtne kode in začel obdelovati kontrole.
3. Uporabnikom priporočamo, da vsakih 24 ur obdelajo en komplet pozitivnih in negativnih uporabniško opredeljenih kontrol.
4. Pozitiven rezultat testa pri negativnem uporabniško opredeljenem kontrolnem vzorcu lahko kaže na težavo s kontaminacijo primerka. Nasvete za odpravljanje težav poiščite v *Priročniku za uporabo NeuMoDx 288 Molecular System ali 96 Molecular System*.
5. Negativni rezultat pri pozitivnem uporabniško opredeljenem kontrolnem vzorcu lahko nakazuje, da obstaja težava, povezana z reagentom ali sistemom NeuMoDx System. Nasvete za odpravljanje težav poiščite v *Priročniku za uporabo NeuMoDx 288 Molecular System ali 96 Molecular System*.

(Notranja) kontrola obdelave vzorca

β -Globin (β G) služi kot endogena notranja kontrola, saj je prisoten v vzorcih materničnega vratu, ki so pravilno zbrani s strganjem. Tarča β G je podvržena celotnemu postopku ekstrakcije nukleinske kisline in PCR v realnem času z vsakim vzorcem in deluje tudi kot preverjanje kakovosti vzorca. Vsakemu testnemu traku NeuMoDx HPV Test Strip so priloženi primerji in šobe, specifični za β G, skupaj s primerji in šobami za različne tarčne HPV, kar omogoča zaznavanje β G poleg tarčne DNK HPV (če je prisotna) preko hkratne PCR. Zaznava amplifikacije β G programski oprema NeuMoDx System omogoča nadzor učinkovitosti zbiranja primerka, ekstrakcije DNK in postopka amplifikacije PCR.

Kontrole sistema NeuMoDx System

Sistemi NeuMoDx System izvajajo različne notranje kontrole instrumenta, kot je navedeni v nadaljevanju:

1. Pred PCR sistem NeuMoDx System samodejno izvede »FILL CHECK« (Preverjanje polnjenja), da se zagotovi, da je komora PCR napolnjena z raztopino in vsebuje ustrezno količino fluorescentne šobe.
2. Programska oprema sistema NeuMoDx System nenehno nadzoruje vgrajene senzorce in aktuatorje, s čimer zagotavlja varno in učinkovito delovanje sistema.
3. Več načinov odpravljanja tekočih napak se izvaja z aktivnim nadzorom operacij aspiracije in razpršitve, da se zagotovi, da lahko sistem bodisi izvede varno in učinkovito obdelavo vseh vzorcev, bodisi zagotovi ustrezno kodo napake.
4. Sistem NeuMoDx System je opremljen s samodejno funkcijo Rerun (Ponovni zagon)/Repeat (Ponoviti), ki jo lahko končni uporabnik izbere za zagotovitev, da se INVALID (Neveljaven) rezultat samodejno ponovno obdela, da se zmanjšajo zamude pri poročanju o rezultatih.

Neveljavni rezultati

Če test NeuMoDx HPV Assay na NeuMoDx System ne ustvari veljavnega rezultata, bo na podlagi tipa napake, ki se je pojavila, javljen kot Indeterminate (Nedoločen) (IND), Unresolved (Nerešeno) (UNR) ali No Result (Ni rezultata) (NR).

Rezultat IND (Nedoločen) bo javljen, če je med obdelavo vzorca zaznana napaka sistema NeuMoDx System. V primeru, da je sporočen rezultat IND (Nedoločen), je priporočen ponovni test.

Rezultat UNR bo javljen, če ni zaznana nobena veljavna amplifikacija DNK HPV ali β G, kar nakazuje morebitno napako reagenta ali prisotnost inhibitorjev. Če je sporočen rezultat UNR, je za prvi korak priporočen ponovni test. Če ponovni test ni uspešen, lahko uporabite razredčen primerk, da ublažite učinke oviranja kateregakoli vzorca.

Rezultat NR bo sporočen, če je obdelava vzorcev prekinjena zaradi napake sistema. Če je sporočen rezultat NR, je priporočen ponovni test. O tej zastavici se poroča samo na programski opremi sistema NeuMoDx System z različico 1.8 in novejšo. V starejših različicah programske opreme se o tej napaki poroča kot IND.

KARAKTERISTIKE DELOVANJA

Analitična občutljivost

Meja zaznavanja (Limit of Detection, LoD) je bila določena z nizom redčenja serijskega trikratnega gBlock (bloki genomske DNK z dvojno vijačnico), ki vsebuje amplikonsko območje iz vsakega od tarčnih vrst HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67, 68) in β -globin. Vsak šestčlanski niz redčenja je bil pripravljen na ozadju 2000 ng/ml človeške DNK (razen β -globina), koncentracija pa je bila testirana 45-krat. Rezultati študije, v kateri je bila LoD določena z analizo 95-odstotne stopnje zadetkov, so predstavljeni v *preglednici 3* v nadaljevanju.

Preglednica 3. Meja zaznavanja (Limit of Detection, LoD) testa NeuMoDx HPV Assay pri 15 vrstah hrHPV in genu β -globinu

Tarča	Meja zaznavanja (kopije/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

Analitična specifičnost

Analitična specifičnost testa NeuMoDx HPV Assay je bila določena glede na DNK ne-tarčnih genomov HPV (Preglednica 4) pri 1×10^6 kopijah/ml in proti potencialno patogenim vaginalnim mikroorganizmom, prikazanim v preglednici 5 pri 1×10^6 CFU/ml ali 1×10^5 PFU/ml. Test ni pokazal navzkrižne reaktivnosti z ne-tarčnimi vrstami HPV 6, 11, 26, 30, 34, 53, 69, 73, 82, 85 ali z mikroorganizmi. Pozitivni rezultati »HPV Other« (HPV drugo) so bili opaženi HPV 70 – verjetno zaradi visoke homologije sekvenc med vrstami 39, 68 in 70 – in poznejša študija titracije je pokazala, da je to vrsto mogoče zaznati pri $\geq 4,12 \times 10^6$ kopijah/ml. HPV 70 na podlagi epidemioloških, filogenetskih in funkcionalnih študij velja za verjetno karcinogenega.

Preglednica 4. Ne-tarčne vrste HPV, ovrednotene za navzkrižno reaktivnost

Ne-tarčni genotipi HPV	
HPV 6	HPV 69
HPV 11	HPV 70
HPV 26	HPV 73
HPV 30	HPV 82
HPV 34	HPV 85
HPV 53	

Preglednica 5. Mikroorganizmi, ovrednoteni za navzkrižno reaktivnost

Mikroorganizem		
Adenovirus*	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	Virus Epstein-Barr	<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>	Virus herpesa simpleksa 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	Virus herpesa simpleksa 2	<i>Staphylococcus faecalis</i>
<i>Corynebacterium spp.</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Staphylococcus pyogenes</i>
Citomegalovirus	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
<i>Treponema pallidum**</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	

* testirano pri 1×10^5 (TCID₅₀)/ml

**izvedeno z analizo silikona

Analitična ponovljivost

Analitična ponovljivost testa NeuMoDx HPV Assay je bila ocenjena z istim naborom podatkov kot za študijo o meji zaznavanja. Vzorci so bili testirani na 3X LoD v treh različnih sistemih NeuMoDx Molecular System, 1 N288 in 2 N96 s pomočjo 3 različnih serij trakov NeuMoDx HPV Test Strips. Podatki so pokazali odlično splošno ponovljivost, pri čemer je bil najvišji CV 3,0 % za vsak preizkušen genotip, kot je prikazano v preglednici 6. Poleg tega je bil ta nabor podatkov uporabljen za prikaz ponovljivosti med številnimi reagenti in sistemi, kot je prikazano v preglednici 7.

Preglednica 6. Testirani genotipi hrHPV

Tarča	Ciljna koncentracija	kopije/ml	Stopnja zadetkov	Skupna CV
β-globin	3X LoD	222.222	100 % (45/45)	1,8 %
HPV 16		24.691	100 % (44/44)	1,3 %
HPV 18		8230	100 % (45/45)	1,3 %
HPV 31		74.074	100 % (45/45)	1,3 %
HPV 33		222.222	100 % (45/45)	1,6 %
HPV 35		222.222	100 % (45/45)	0,8 %
HPV 39		222.222	100 % (45/45)	1,4 %
HPV 45		222.222	100 % (45/45)	1,5 %
HPV 51		222.222	100 % (45/45)	1,8 %
HPV 52		666.667	97,8 % (44/45)	3,0 %
HPV 56		222.222	100 % (45/45)	1,3 %
HPV 58		666.667	100 % (44/44)	2,4 %
HPV 59		666.667	100 % (45/45)	2,5 %
HPV 66		222.222	100 % (45/45)	1,8 %
HPV 67		222.222	100 % (45/45)	1,4 %
HPV 68		2.000.000	100 % (45/45)	2,9 %

Preglednica 7. Med serijo in med ponovljivostjo sistema

Tarča	CV variacija serije			CV variacija sistema		
	Serija 1	Serija 2	Serija 3	Sistem 1 (N96)	Sistem 2 (N288)	Sistem 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 %

Moteče snovi

Namišljeni vzorci medija PreservCyt so bili obogateni z rekombinantnim bakulovirusom, ki vsebuje ampliconske regije HPV 16, 18, 51 in β-globina pri 1000 kopijah/ml in snovi navedene v *preglednici 8*. Nobeno od sredstev ni imelo pomembnega inhibitornega vpliva na uspešnost testa.

Preglednica 8. Testirane potencialno moteče snovi

	Snov	Koncentracija
Endogena	Polna kri (človeška)	1 % (v/v)
	Levkociti	10 ⁶ celic/ml
	Mucin	1 % (v/v)
Eksogena	Gel za tuširanje	1 % (v/v)
	Krema proti glivicam	1 % (w/v)
	Spermicid	1 % (w/v)
	Vaginalno mazivo	1 % (w/v)
	Žensko razpršilo	1 % (v/v)
	Kontracepcijska pena	1 % (w/v)

Stabilnost vzorca med uporabo

Kontrola rekombinantnega bakulovirusa, ki je vsebovala tarče za HPV 16, 18, 51 in β -globin, je bila obogatena do koncentracije $\sim 3 \times \text{LoD}$ cp/ml v mediju za zbiranje SurePath ali PreservCyt ter obdelana s testom NeuMoDx HPV Assay. Ob koncu obdelave so vsi pozitivni in negativni primerki v epruvetah ostali na delovni mizi sistema 4, 8 oziroma 24 ur, nato pa so bili znova testirani. Pričakovani rezultat ob vseh časovnih točkah je bil POSITIVE (POZITIVNO) pri vseh citoloških primerkih, obogatenih s tarčo, in NEGATIVE (NEGATIVNO) (za vse tarče) pri citoloških primerkih, ki niso bili obogateni s tarčo. Ob časovni točki 24 ur je bila opažena popolna skladnost s pričakovanimi rezultati, kar kaže na 24-urno stabilnost med uporabo pri testiranju s testom NeuMoDx HPV Assay. Rezultati so povzeti v *preglednici 9* spodaj. Med shranjevanjem v sistemu v obdobju 24 ur je bila stopnja izhlapevanja pri vzorcih PreservCyt 20 %, vendar to ni vplivalo na zaznavanje tarč pri testirani koncentraciji.

Preglednica 9. Povzetek podatkov o stabilnosti vzorca med uporabo

Stabilnosti primerkov med uporabo	Tarča	PreservCyt		SurePath	
		T ₀	24 ur	T ₀	24 ur
		% skladanje	% skladanje	% skladanje	% skladanje
Pozitivni	HPV 16	100 %	100 %	100 %	100 %
	HPV 18	100 %	100 %	100 %	100 %
	HPV drugo	100 %	100 %	100 %	100 %
	β -globin	100 %	100 %	100 %	100 %
Negativni	Negativno (samo β -globin)	100 %	100 %	100 %	100 %

Klinično delovanje – medij za zbiranje PreservCyt

Klinična občutljivost in specifičnost testa NeuMoDx HPV Assay za cervikalno intraepitelno neoplazijo stopnje 2 ali višje (CIN2+) pri primerkih materničnega vratu je bila ocenjena z analizo ne-manjvrednosti glede na referenčni test (t.j. HPV GP5+/6+-PCR-EIA z visokim tveganjem) v skladu z mednarodnimi smernicami glede zahtev za test HPV za presejalne preglede raka materničnega vratu.¹⁶ S pomočjo formata študije za nadzor primerov je bilo testiranih 67 vzorcev žensk, starih 30 let in več, s histološko potrjenim CIN2+ (t.j. primeri; *preglednica 10*). Za klinično specifičnost je bilo v 2 letih po spremljanju testiranih 823 zaporedno zbranih vzorcev citologije na tekoči osnovi iz preiskovane populacije žensk z normalno citologijo in brez dokazov o CIN2+ (t.j. kontrole). Splošna stopnja uspešnosti testa NeuMoDx HPV Assay je bila 99,4 % (818/823), kot je prikazano v *preglednici 11*. Klinična občutljivost testa NeuMoDx HPV Assay za CIN2+ je bila 92,5 % (62/67; 95-odstotni IZ 83,3–96,9), klinična specifičnost za CIN2+ pa 95,6 % (782/818; 95-odstotni IZ 92,2–97,6), oboje pa ni bilo manjvredno v primerjavi z referenčnim testom GP5+/6+-PCR-EIA ($P = 0,02$ in $P < 0,0001$).

Preglednica 10. Rezultati klinične občutljivosti pri vzorcih, odvzetih ženskam, starejšim od 30 let, s potrjenim CIN2+

Referenčni test	NeuMoDx HPV Assay		
	POZ.	NEG	SKUPAJ
POZ.	61	2	63
NEG	1	3	4
SKUPAJ	62	5	67
Klinična občutljivost testa NeuMoDx HPV Assay: 92,5 % (95-odstotni IZ 83,3–96,9)			

Preglednica 11. Rezultati klinične specifičnosti pri vzorcih, odvzetih ženskam z normalno citologijo in brez potrjenega CIN2+

Referenčni test	NeuMoDx HPV Assay		
	POZ.	NEG	SKUPAJ
POZ.	28	19	47
NEG	8	763	771
SKUPAJ	36	782	818
Klinična specifičnost testa NeuMoDx HPV Assay: 95,6 % (95-odstotni IZ 92,2–97,6)			

Za ženske mlajše od 30 let, je bilo testiranih 173 vzorcev citologije na tekoči osnovi pri ženskah, ki obiskujejo ambulantno. Stopnja uspešnosti testa NeuMoDx HPV Assay je bila 98,3 % (170/173) (Preglednica 12). Občutljivost CIN3+ za test NeuMoDx HPV Assay je bila 91,1 % (41/45; 95-odstotni IZ 78,6–96,6), specifičnost CIN3+ pa 51,2 % (64/125; 95-odstotni IZ 42,5–60,0). Vrednosti relativne občutljivosti in specifičnosti v primerjavi s testom QIAScreen HPV PCR Test so bile 1,03 oziroma 1,10.

Preglednica 12. Učinkovitost testa NeuMoDx HPV Assay pri ženskah, starih <30 let, stratificiranih s histologijo in testom QIAScreen HPV PCR Test

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

Za ženske z ASC-US ali LSIL je bila klinična občutljivost za CIN2+ 91,7 % (11/12; 95 % IZ 58,7–98,8), klinična specifičnost za CIN2 + pa 75,0 % (15/20; 95 % IZ 52,2–89,2) (preglednica 13).

Preglednica 13. Uspešnost testa NeuMoDx HPV Assay pri ženskah s citologijo ASC-US/LSIL, stratificiranih s histologijo in rezultatom referenčnega testa

Histologija	Referenčni test	NeuMoDx HPV Assay		
		NEG	POZ.	SKUPAJ
<=CIN1	NEG	13	-	13
	POZ.	2	5	7
	SKUPAJ	15	5	20
CIN2	NEG	-	-	-
	POZ.	-	6	6
	SKUPAJ	-	6	6
CIN3+	NEG	1	-	1
	POZ.	-	5	5
	SKUPAJ	1	5	6
SPLOŠNO	NEG	14	-	14
	POZ.	2	16	18
	SKUPAJ	16	16	32

Klinično delovanje – medij za zbiranje SurePath

Klinična občutljivost in specifičnost testa NeuMoDx HPV Assay pri zaznavanju CIN2+ sta bili določeni v študiji primerov in kontrol z uporabo 948 primerkov abradata materničnega vratu, shranjenih v mediju za zbiranje SurePath. Relativna občutljivost in specifičnost testa NeuMoDx HPV Assay za CIN2+ v primerjavi s klinično potrjenim referenčnim testom (tj. test za odkrivanje HPV z visokim tveganjem) sta bili določeni na podlagi statistične metode »točkovnega testa ne-manjvrednosti«.

Klinična občutljivost je bila določena z uporabo 106 vzorcev, odvzetih ženskam z diagnozo histološko potrjenega CIN2+ (tj. primeri). Povprečna starost žensk je bila 38 (razpon 30–58) let. Ugotovljena občutljivost testa NeuMoDx HPV Assay je bila 92,5 % (98/106; 95-odstotni IZ: 85,6–96,2) in enakovredna občutljivosti referenčnega testa za odkrivanje HPV z visokim tveganjem (preglednica 14). Relativna občutljivost testa NeuMoDx HPV Assay v primerjavi s testom za odkrivanje HPV z visokim tveganjem je bila 1,00, z vrednostjo točkovnega testa ne-manjvrednosti $p = 0,0009$.

Klinična specifičnost je bila določena na podlagi 842 vzorcev, shranjenih v mediju za tekočinsko citologijo (SurePath), ki so bili med presejanjem odvzeti populaciji žensk z normalno citologijo in brez znakov CIN2+ v 2 letih spremljanja. Povprečna starost žensk je bila 43 (razpon 30–59) let, veljavnih pa je bilo 98,6 % (935/948) testiranih vzorcev. Specifičnost testa NeuMoDx HPV Assay je bila 93,5 % (775/829; 95-odstotni IZ: 91,6–95,0), referenčnega testa za odkrivanje HPV z visokim tveganjem pa 91,9 % (762/829; 95-odstotni IZ: 89,9–93,6) (preglednica 15). Relativna specifičnost testa NeuMoDx HPV Assay v primerjavi s testom za odkrivanje HPV z visokim tveganjem je bila 1,02, z vrednostjo točkovnega testa ne-manjvrednosti $p < 0,0001$.

Preglednica 14. Rezultati klinične občutljivosti pri vzorcih, odvzetih ženskam s potrjenim CIN2+ in shranjenih v mediju za zbiranje SurePath

Referenčni test	NeuMoDx HPV Assay		
	POZ.	NEG	SKUPAJ
POZ.	97	1	98
NEG	1	7	8
SKUPAJ	98	8	106
Klinična občutljivost testa NeuMoDx HPV Assay: 92,5 % (95-odstotni IZ 85,6–96,2)			

Preglednica 15. Rezultati klinične specifičnosti pri vzorcih, odvzetih ženskam z normalno citologijo in brez potrjenega CIN2+ ter shranjenih v mediju za zbiranje SurePath

Referenčni test	NeuMoDx HPV Assay		
	POZ.	NEG	SKUPAJ
POZ.	48	6	54
NEG	19	756	775
SKUPAJ	67	775	842
Klinična specifičnost testa NeuMoDx HPV Assay: 93,5 % (95-odstotni IZ 91,6–95,0)			

Klinična ponovljivost

Ponovljivost v laboratoriju in ujemanje med laboratoriji testa na kliničnih primerkih, shranjenih v mediju PreservCyt, sta bila ocenjena v skladu z mednarodnimi smernicami za zahteve testa HPV za presejanje raka materničnega vratu.¹⁶ Ponovljivost v laboratoriju na primerkih materničnega vratu v celotnem trajanju študije je bila 96,0 % (484/504; 95-odstotni IZ 94,3–97,4) z vrednostjo kappa (κ) 0,90 (*preglednica 16*). Rezultati teh testnih momentih so bili nato ocenjeni, da so bili skladni z rezultati drugega testnega mesta, pri čemer so bila navedena ujemanja med laboratoriji 96,4 % (486/504; 95 % IZ 94,8–97,7) z $\kappa = 0,91$ in 94,4 % (476/504; 95 % IZ 92,5–96,1) z $\kappa = 0,86$ za prvi in drugi testni moment (*preglednica 17*).

Preglednica 16. Ponovljivost v laboratoriju za test NeuMoDx HPV Assay skozi čas

Rezultat 1 preskusa testa NeuMoDx HPV Assay	Rezultat 2 preskusa testa NeuMoDx HPV Assay		
	NEG	POZ.	SKUPAJ
NEG	347	13	360
POZ.	7	137	144
SKUPAJ	354	150	504
Ponovljivost = 96,0 % ujemanje (95-odstotni IZ 94,3–97,4); $\kappa = 0,90$			

Preglednica 17. Ujemanje med laboratoriji za test NeuMoDx HPV Assay

Zunanji preskus testa NeuMoDx HPV Assay	NeuMoDx HPV Assay – Rezultat notranjega testa 1			NeuMoDx HPV Assay – Rezultat notranjega testa 2		
	NEG	POZ.	SKUPAJ	NEG	POZ.	SKUPAJ
NEG	355	13	368	347	21	368
POZ.	5	131	136	7	129	136
SKUPAJ	360	144	504	354	150	504
96,4 % ujemanje (95-odstotni IZ 94,8–97,7); $\kappa = 0,91$			94,4 % ujemanje (95-odstotni IZ 92,5–96,1); $\kappa = 0,86$			

REFERENCE

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.

BLAGOVNE ZNAMKE

NeuMoDx™ in NeuDry™ sta blagovni znamki podjetja NeuMoDx Molecular, Inc.

Hamilton® je registrirana blagovna znamka družbe Hamilton Company.


PreservCyt® je registrirana blagovna znamka družbe Hologic, Inc.

SurePath™ je blagovna znamka družbe Becton Dickinson (BD).

Vsa druga imena proizvodov, blagovnih znamk in registriranih blagovnih znamk, ki se morda pojavijo v tem dokumentu, so last njihovih zadevnih lastnikov.

POMEN SIMBOLOV

R only Samo na recept


 Proizvajalec


IVD Diagnostični medicinski pripomoček *in vitro*


EC REP Pooblaščen predstavnik v Evropski skupnosti


REF Kataloška številka


LOT Koda serije

 Rok uporabnosti

 Temperaturna meja

 Ne uporabljajte ponovno

 Vsebuje zadostno količino za $<n>$ testov

 Glejte navodila za uporabo

 Pozor

 Biološka tveganja

CE Oznaka CE



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

Sponzor (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



Tehnična podpora/poročanje v okviru vigilance: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents