

REF 617007 NeuMoDx™ HPV Test Strip -testiliuska

R only

HUOMIO: Vain vietäväksi Yhdysvaltojen ulkopuolelle

IVD Tarkoitettu NeuMoDx 288 Molecular System- ja NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmillä tehtävää *in vitro* -diagnostiikkaa varten

 Sähköinen versio on saatavilla osoitteessa www.qiaqen.com/neumodx-ifu

Lisätietoja on NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa, tuotenumero 40600108

Lisätietoja on NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa, tuotenumero 40600317

KÄYTTÖTARKOITUS

NeuMoDx HPV Assay -määritys, jota käytetään NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmässä ja NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmässä (NeuMoDx System -järjestelmät) on nopea, automaattinen, *in vitro* -diagnostinen, reaaliaikainen PCR-pohjainen nukleiinihapon monistumääritys korkean riskin tyyppien ihmisen papilloomaviruksen (Human Papillomavirus, HPV) DNA:n kvalitatiiviseen havaitsemiseen kohdunkaulasta otetuista näytteistä. Testi tunnistaa erityisesti tyytit HPV16 ja HPV18 samalla kun se havaitsee myös muut korkean riskin tyytit (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 ja 68) kliinisesti merkittävän infektion tasolla. NeuMoDx HPV Assay -määrityksellä voidaan testata kohdunkaulan näytteitä, jotka lääkäri on ottanut harjamaisella näytteenottovälineellä ja jotka on säilytetty PreservCyt®- (HOLOGIC) tai SurePath™ (BD) -sytologiaaliukseen. Määritys on tarkoitettu 21-vuotiaiden ja sitä vanhempien naisten kohdunkaulan syövän (esiasteen) seulonnan ensisijaiseksi testiksi, jonka avulla määritetään, tarvitaanko emätintähystystä tai muita jatkotoimenpiteitä, sekä seurantatarkastuksi naisille, joiden papakokeen tulos on atyyppiset levyepiteelisolut, merkitys epäselvä (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) tai lieväasteinen levyepiteelimuutos (Low-grade Squamous Intra-epithelial Lesion, LSIL), auttamaan sen määrittämisessä, tarvitaanko emätintähystystä tai muita jatkotoimenpiteitä. Näitä tietoja voidaan käyttää yhdessä lääkärin tekemän sytologian, historian ja muiden riskitekijöiden arvioinnin sekä ammatillisten ohjeistusten kanssa potilaan hoidon hallintaan.

Tämä tuote on tarkoitettu ammattimaisten käyttäjien, kuten *in vitro* -diagnostisissa toimenpiteistä ja molekulaaribiologisista tekniikoista koulutusta saaneiden teknikoiden ja laboranttien, käyttöön.

YHTEENVETO JA SELITYKSET

Korkean riskin tyyppien ihmisen papilloomaviruksen (Human Papillomavirus, HPV) aiheuttama jatkuva infektio aiheuttaa kohdunkaulansyöpää ja sen esiasteleesioita (kohdunkaulan intraepiteelinen neoplasia, [Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN]).¹⁻³ Ihmisen papilloomavirus (Human Papillomavirus, HPV) on papilloomaviruksiin kuuluva pieni virus, jolla on kaksisäikeinen DNA. Pyöreä genomi on noin 7,9 kilobasea pitkä. Ihmisen papilloomaviruksia on tunnistettu yli 100 tyyppiä, joista tiettyjen tyyppien, joita kutsutaan korkean riskin ihmisen papilloomaviruksiksi (High-Risk HPV, hrHPV), kuten tyyppien HPV 16 ja 18, on todettu liittyvän mahdollisesti pahanlaatuisiksi etenevien limakalvoleonien syntymiseen. Viruksen genomi sisältää varhaisia (Early, E) ja myöhäisiä (Late, L) geenejä, jotka koodittavat HPV:n elinkaarensa varhaisissa ja myöhäisissä vaiheissa tarvitsemia proteiineja. hrHPV-tyyppien E6- ja E7-geenituotteissa on syöpää aiheuttavia ominaisuuksia ja ne ovat välttämättömiä isäntäsolun pahanlaatuisiin muutoksiin.⁴ Pahanlaatuisuuden eteneminen on usein liitetty viruksen integroitumiseen isäntäsolun genomiin.⁵ Integraatio johtaa viruksen genomien katkeamiseen alueelta, joka voi ylettyä E1:sta L1:een avoimessa lukukehyksessä.⁶ Tämä kehitys voi vaikuttaa PCR:n avulla toteutettuun viruksen DNA:n monistukseen näillä alueilla. Koska muuttuneen fenotyypin syntymisen lisäksi myös sen ylläpito edellyttää viruksen onkoproteiinien jatkuvaa läsnäoloa, viruksen E6/E7-alue pysyy kohdunkaulansyöpätapauksissa poikkeuksetta integroituneena viruksen vaikuttamaan genomiin.^{6,7,8}

Kohdunkaulansyöpä on harvinainen HPV-infektion komplikaatio. Koko eliniän kattava riski saada hrHPV-infektio on arviolta 80 %, ja näistä infektioista isännän immuunijärjestelmä poistaa suurimman osan, eivätkä ne aiheuta leesioita.⁹ Kun HPV-infektio poistuu, CIN-leesiot tavallisesti häviävät.¹⁰

HPV:n DNA:n esiintymisen testaaminen antaa paremman suojan kohdunkaulansyöpää ja sen esiasteiden CIN-leesioita vastaan kuin sytomorfologinen analyysi (esim. papakoe) kohdunkaulan näytteistä 30-vuotiaiden ja sitä vanhempien naisten ensisijaisessa seulonnassa ja 21-vuotiaiden ja sitä vanhempien, ASC-US- tai LSIL-tuloksen kohdunkaulan irtosolututkimuksesta saaneiden naisten hoidon kiireellisyyden arvioinnissa.¹¹⁻¹⁵ Ensisijaisia HPV-perusteista kohdunkaulan seulontatutkimusta käytetään maailmanlaajuisesti useissa maissa, ja HPV:n DNA:n testausvaatimuksista ensisijaisessa kohdunkaulansyövän seulonnassa on julkaistu kansainväliset ohjeistukset.¹⁶ NeuMoDx HPV Assay -määrityksen kohteena on HPV-genomin E7-geenin konservoitunut alue, jolloin sen avulla vältetään viruksen isäntäsoluun integroitumisen aiheuttamat mahdolliset väärit negatiiviset tulokset.

MENETELMÄN TOIMINTAPERIAATE

NeuMoDx HPV Assay -määrityksessä yhdistyvät automaattinen DNA:n eristys sekä monistus ja tunnistus reaaliaikaisella PCR:llä. Kohdunkaulan näytteet kerätään nestemäiseen sytologiaaliukseen ja siirretään sitten järjestelmään sopivaan toissijaiseen näyteputkeen, johon lisätään viivakoodi ja joka asetetaan NeuMoDx System -järjestelmään. NeuMoDx System -järjestelmä aloittaa käsittelyn automaattisesti aspiroimalla näytteen ja sekoittamalla siihen NeuMoDx Lysis Buffer 2 -lyysauspuskuri ja NeuMoDx Extraction Plate -eristyslevyn sisältämiä aineita. NeuMoDx System -järjestelmä suorittaa automaattisesti ja järjestelmän sisäisesti DNA:n eristämisen ja rikastamisen, reagenssien valmistelun ja nukleiinihappojen monistuksen ja kohdesekvenssien tunnistuksen reaaliaikaisella PCR:llä. Jokaisessa oikein kerätyssä näytteessä esiintyvä β-glodiini (βG) -DNA toimii järjestelmän sisäisenä näytteen prosessikontrollina ja auttaa tarkkailemaan estäjienhäiritsevien aineiden esiintymistä sekä järjestelmässä, prosessissa tai reagensseissa esiintyviä virheitä. Kun näyte ja tarvittavat tarvikkeet on asetettu NeuMoDx System -järjestelmään, käyttäjän toimia ei enää tarvita.

NeuMoDx System suorittaa liytsauksen, DNA:n eristämisen ja häiritsevien aineiden poistamisen automaattisesti. Vapautuneet nukleiinihapot tarttuvat paramagneettisiin hiukkasiin. Hiukkaset, joihin nukleiinihapo on sitoutunut, latautuvat NeuMoDx Cartridge -kasettiin, missä sitoutumattomat elementit pestään pois NeuMoDx Wash Reagent -pesureagenssilla. Sitoutunut DNA eluoidaan käyttämällä NeuMoDx Release Reagent -irrotusreagenssia. Eluoidun DNA:n avulla NeuMoDx System -järjestelmä rehydroi omistusoikeudellisia NeuDry™-monistusreagensseja, jotka sisältävät kaikki 15 mahdollisen HPV-kohteen ja β-globiini-kohteen 40 monistamissykliin tarvittavat osat. Näin kohde- ja kontrolli-DNA-sekvenssit voidaan monistaa ja tunnistaa samanaikaisesti. Kun kuivatut PCR-reagenssit on valmisteltu, NeuMoDx System -järjestelmä annostelee PCR-ajoa varten valmiin seoksen NeuMoDx Cartridge -kasetin yhteen PCR-kammioon (näytekohtaisesti). Kontrolli- ja kohde-sekvenssit (jos niitä on) monistetaan ja tunnistetaan PCR-kammiossa. NeuMoDx Cartridge -kasetti on suunniteltu niin, että amplikonit jäävät kasettiin PCR:n jälkeen, mikä käytännössä katsoen eliminoi monistuksen jälkeisen kontaminaation vaaran.

Monistetut kohteet tunnistetaan reaaliaikaisesti hydrolyysikoettimien avulla (eli TaqMan®-tekniikalla), jossa käytetään amplikonikohtaisia fluoresoivia oligonukleotidikoettimen molekyylejä. TaqMan-koettimet koostuvat fluoresoivasta aineesta, joka on kovalenttisesti kiinnittynyt oligonukleotidikoettimen 5'-päähen, ja 3'-päässä olevasta sammuttajasta. Koettimen ollessa ehjä fluoresoivan aineen ja sammuttajamolekyylin läheisyys tukahduttaa fluoresoivan aineen lähettämän fluoresenssin Förster-tyyppisellä energiansiirrolla (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

TaqMan-koettimet on suunniteltu kiinnittymään tietyn alukejoukon monistamalle DNA:n alueelle. Kun Taq DNA -polymeraasi pidentää aluketta ja syntetisoi uuden juosteen, Taq DNA -polymeraasin 5'-3'-eksonukleaasiaktiivisuus hajottaa malliin kiinnittyneen koettimen. Koettimen hajoaminen vapauttaa fluoresoivan aineen, ja koetin ja sammuttaja erkanevat toisistaan, jolloin FRET:n tukahduttamisvaikutus estyy ja fluoresoivan aineen havaitseminen voi tapahtua. NeuMoDx System -järjestelmän PCR-laitteessa havaittu fluoresenssisignaali on suoraan verrannollinen vapautuneeseen fluoresoivaan aineeseen ja siitä voidaan laskea korrelaatio kohteen määrän kanssa.

TaqMan-koetinta, joka on leimattu fluoresoivalla aineella 5'-päästä ja pimeällä sammuttajalla 3'-päästä, käytetään HPV 16:n (470/510 nm), HPV 18:n (625/660 nm) ja muiden kliinisesti merkittävästi korkean riskin (High Risk, HR) tyyppien (HPV Other [Muu HPV]; 530/555 nm) tunnistamiseen. β-globiinin tunnistusta varten TaqMan-koetin on leimattu vaihtoehtoisella fluoresoivalla värillä (585/610 nm) 5'-päässä ja pimeällä sammuttajalla 3'-päässä. NeuMoDx System -järjestelmän ohjelmisto valvoo TaqMan-koettimien lähettämää fluoresenssisignaalia jokaisen monistamissyklin lopussa. Monistamisen päätyttyä NeuMoDx System -järjestelmän ohjelmisto analysoi tiedot ja laatii raportin tuloksista (POSITIVE [Positiivinen] / NEGATIVE [Negatiivinen] / INDETERMINATE [Epäselvä] / UNRESOLVED [Ratkaisematon] / NO RESULT [Ei tulosta]).

REAGENSIT/TARVIKKEET

Toimitetut materiaalit

REF	Sisältö	Yksiköt pakkauksessa	Testit yksikössä	Testejä/pakkaus
617007	NeuMoDx HPV Test Strip -testiliuska Kuivatut PCR-reagenssit, jotka sisältävät HPV- ja βG-spesifisen TaqMan®-koettimen ja alukkeet	6	16	96

Tarvittavat materiaalit, jotka eivät sisälly toimitukseen (saatavilla erikseen NeuMoDx-yhtiöltä)

REF	Sisältö
100200	NeuMoDx Extraction Plate -eristyslevy Kuivatut paramagneettiset hiukkaset, hajottava entsyymi ja β-globiini-ohjelmisto
400500	NeuMoDx Lysis Buffer 2 -lyysauspuskuri
401600	NeuMoDx Viral Lysis Buffer -lyysauspuskuri*
400100	NeuMoDx Wash Reagent -pesureagenssi
400200	NeuMoDx Release Reagent -irrotusreagenssi
100100	NeuMoDx Cartridge -kasetti
235903	Hamilton® CO-RE / CO-RE II -kärjet (300 µl) ja suodattimet
235905	Hamilton CO-RE / CO-RE II -kärjet (1 000 µl) ja suodattimet

*Tarvitaan esikäsiteltyjen SurePath-näytteiden käsittelyyn

Tarvittavat laitteet

NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmä [REF 500100] tai NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmä [REF 500200]

⚠️ ⓧ VAROITUKSET JA VAROTOIMET

- NeuMoDx HPV Test Strip -testiliuska on tarkoitettu *in vitro* -diagnostiseen käyttöön vain NeuMoDx System -järjestelmillä.
- Älä käytä reagensseja tai tarvikkeita viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen.
- Reagensseja ei saa käyttää, jos suoja- ja tiiviste on rikki tai pakkaus on vahingoittunut vastaanotettaessa.
- Älä käytä tarvikkeita ja reagensseja, jos suoja- ja tiiviste on avautunut tai rikki vastaanotettaessa.
- Toissijaisten alikvoottien näytteen vähimmäismäärä riippuu näyteputken koosta ja näyteputkelineestä seuraavasti. Määritettyä minimiä pienempi määrä voi aiheuttaa virheen Quantity Not Sufficient (Määrä ei riitä).
- Väärissä lämpötiloissa tai liian pitkään säilytettyjen näytteiden käyttö voi aiheuttaa epäkelvöllisiä tai virheellisiä tuloksia.
- Vain Viral Lysis Buffer -lyysauspuskurilla esikäsiteltyjä SurePath-näytteitä voidaan käyttää NeuMoDx Molecular System -järjestelmissä. Laimentamattomista näytteistä voidaan saada epäkelvöllisiä tai epäoptimaalisia tuloksia.
- Validointitutkimuksissa, joissa tarkkailtiin järjestelmän sisäistä näytteen stabiliteettia PreservCyt-keruuaineen korkean haihtuvuuden takia, havaittiin korkeintaan 20 %:n näytteen haihtuminen. Tämän ei odoteta vaikuttavan negatiivisesti näytteen tuloksiin, mutta se on huomioitava valmisteltaessa näytteitä käsittelyyn käsittelyn viivästyessä. Merkittävää haihtumista ei havaittu esikäsitellyillä SurePath-näytteillä.
- Vältä kaikkien reagenssien ja tarvikkeiden mikrobi- ja deoksiribonukleasi (DNAasi) -kontaminaatiota. Steriilien, DNAasittomien kertakäyttösiirtopipettien käyttö on suositeltavaa käytettäessä toissijaisia putkia. Käytä jokaiselle näytteelle uutta pipettiä.
- Vältä kontaminaatio: älä käsittele äläkä irrota NeuMoDx Cartridge -kasettia monistamisen jälkeen. Älä missään tapauksessa ota NeuMoDx Cartridge -kasetteja biovaarallisen jätteen säiliöstä (NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmässä) tai biovaarallisen jätteen astiasta (NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmässä). NeuMoDx Cartridge -kasetti on suunniteltu estämään kontaminaatiota.
- Kun laboratoriossa tehdään PCR-testejä myös avoimella putkella, on varottava, etteivät NeuMoDx HPV Test Strip -testiliuska, muut testissä tarvittavat tarvikkeet ja reagenssit, suojavaarusteet, kuten käsinet ja laboratoriotakit, ja NeuMoDx System -järjestelmä kontaminoidu.
- NeuMoDx:n reagensseja ja tarvikkeita käsiteltäessä on käytettävä puhtaita, puuterittomia nitrilikäsitteitä. Varo, ette kosketa NeuMoDx Cartridge -kasetin yläpintaa tai NeuMoDx HPV Test Strip -testiliuskan ja NeuMoDx Extraction Plate -eristyslevyn kalvotiivistepintaa tai NeuMoDx Lysis Buffer 2 -lyysauspuskurin yläpintaa. Tarvikkeita ja reagensseja käsiteltäessä saa koskea vain sivupintoihin.
- Jokaiselle reagenssille on (soveltuvasti) saatavissa käyttöturvallisuustiedote (Safety Data Sheet, SDS) osoitteesta www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Pese kädet huolellisesti testin jälkeen.
- Älä pipetoi suun avulla. Älä tupakoi, syö tai juo tiloissa, joissa käsitellään näytteitä tai reagensseja.
- Käsittele näytteitä aina kuten tartuntavaarallisia näytteitä ja noudata laboratorion turvaohjeita: *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁷ ja CLSI Document M29-A4.¹⁸
- Hävitä käyttämättömät reagenssit ja jäte paikallisten, alueellisten ja kansallisten säädösten mukaisesti.
- Ei saa käyttää uudelleen.

TUOTTEEN SÄILYTYS, KÄSITTELY JA STABIILISUUS

- NeuMoDx HPV Test Strips -testiliuskat ovat vakaita sisäpakkauksessa tuotteen etiketissä ilmoitettuun viimeiseen käyttöpäivään asti, kun niitä säilytetään 15–23 °C:n lämpötilassa.
- Älä aseta uudelleen mitään testituotetta, joka on aiemmin asetettu *toiseen* NeuMoDx System -järjestelmään.
- Kun NeuMoDx HPV Test Strip on asetettu, se voi olla NeuMoDx System -järjestelmän sisällä 14 vuorokautta. Ohjelmisto seuraa järjestelmään asetettujen testiliuskojen jäljellä olevaa käyttöikää ja ilmoittaa sen käyttäjälle reaaliaikaisesti. Järjestelmä kehottaa vaihtamaan testiliuskan, joka on ollut käytössä sallittua pidemmän ajan.

NÄYTTEIDEN OTTAMINEN, KÄSITTELEMINEN, SÄILYTTÄMINEN JA KULJETTAMINEN

1. NeuMoDx HPV Assay -määritys on tarkoitettu kohdunkaulan näytteistä otetuista näytteistä. Kohdunkaulan näytteiden keräämiseen hyväksytyt keräysaineet ovat PreservCyt ja SurePath. Noudata näytteenottolaitteen valmistajan antamia valmistelu- ja säilytysohjeita.
2. SurePath-näytteet täytyy esikäsitellä ennen käyttöä seuraavien ohjeiden mukaisesti.
3. **Jääkaapissa säilytettyjen näytteiden pitää antaa tasaantua huoneenlämpöön vähintään 30 minuuttia ennen käsittelyä, jotta järjestelmä voi käsitellä ne oikein.**
4. Valmisteltuja kohdunkaulan näytteitä voidaan säilyttää NeuMoDx System -järjestelmässä enintään 24 tuntia ennen käsittelyä. Jos tarvitaan pidempi säilytysaika, on suositeltavaa säilyttää näytteitä seuraavasti:

PreservCyt-liuokseen säilytyt kohdunkaulan näytteet:

- a. 15–25 °C:ssa korkeintaan 6 viikkoa näytteenoton jälkeen
- b. 2–8 °C:ssa korkeintaan 3 kuukautta näytteenoton jälkeen
- c. Korkeintaan 8 vuotta -80 °C:ssa. Jos näytteet on pakastettu, anna niiden sulaa täysin huoneenlämmössä (15–30 °C) ja käytä niitä vortex-laitteessa, jotta näytemateriaali jakautuu tasaisesti näytteessä.

SurePath-liuokseen säilötyt kohdunkaulan näytteet:

- 2–30 °C:ssa korkeintaan 30 vuorokautta näytteenoton jälkeen
 - 2–8 °C:ssa korkeintaan 180 vuorokautta näytteenoton jälkeen
 - Korkeintaan 180 vuorokautta –20 °C:ssa. Jos näytteet on pakastettu, anna niiden sulaa täysin huoneenlämmössä (15–30 °C) ja käytä niitä vortex-laitteessa, jotta näytemateriaali jakautuu tasaisesti näytteessä.
- Jos näytteitä kuljetetaan, ne on pakattava ja merkittävä sovellettavien maakohtaisten ja/tai kansainvälisten säädösten mukaisesti.
 - Merkitse näytteet selvästi ja ilmoita, että näytteet on tarkoitettu HPV-testaukseen.

KÄYTTÖOHJEET

Testin valmistelu – PRESERVCYT

- Kiinnitä näytteen viivakoodietiketti NeuMoDx System -järjestelmän kanssa yhteensopivaan näyteputkeen.
- Aseta viivakoodilla merkitty putki näyteputkelineeseen ja varmista, että korkki on poistettu ennen telineen lataamistaasettamista NeuMoDx System -järjestelmään.
- Tee näytteistä alikvootit alla **PreservCyt**-näytteille määritettyjen määrien mukaisesti:
 - Näyteputkeline (32 putken): halkaisija 11–14 mm ja korkeus 60–120 mm; vähimmäistäyttömäärä = 400 µl
 - Näyteputkeline (24 putken): halkaisija 14,5–18 mm ja korkeus 60–120 mm; vähimmäistäyttömäärä = 850 µl
 - Pienen tilavuuden näyteputkien teline (32 putken): 1,5 ml:n kartiomikrosentrifugiputki; vähimmäistäyttömäärä= 250 µl

Testin valmistelu – SUREPATH

- Esikäsittele SurePath-näytteet NeuMoDx Viral Lysis Buffer -lyysauspuskurilla suhteessa 1:1 ja sekoita huolellisesti. Käytä alla esitettyjä määriä, jotta näytteen vähimmäismäärä täyttyy.
- Inkuboi 90 °C:ssa 20 minuuttia ja tasaa sitten huoneenlämpöön, ennen kuin siirryt seuraavaan vaiheeseen.
- Kiinnitä näytteen viivakoodietiketti NeuMoDx System -järjestelmän kanssa yhteensopivaan näyteputkeen.
- Aseta viivakoodilla merkitty putki näyteputkelineeseen ja varmista, että korkki on poistettu ennen telineen lataamistaasettamista NeuMoDx System -järjestelmään.
- Tee näytteistä alikvootit alla **SurePath**-näytteille määritettyjen määrien mukaisesti:
 - Näyteputkeline (32 putken): halkaisija 11–14 mm ja korkeus 60–120 mm; vähimmäistäyttömäärä = 450 µl
 - Näyteputkeline (24 putken): halkaisija 14,5–18 mm ja korkeus 60–120 mm; vähimmäistäyttömäärä = 800 µl
 - Pienen tilavuuden näyteputkien teline (32 putken): 1,5 ml:n kartiomikrosentrifugiputki; vähimmäistäyttömäärä= 300 µl

NeuMoDx System -järjestelmän käyttö

Lisätietoja on NeuMoDx 288/96 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa (osanumerot 40600108 ja 40600317)

- Lataa testitilaus NeuMoDx System -järjestelmään valitun näytetyypin mukaisesti.
 - PreservCyt-näytteet testataan määrittämällä näytteeksi Cytology (Sytologia).
 - Esikäsitellyt SurePath-näytteet testataan määrittämällä näytteeksi UserSpecified1.

PreservCyt-näytetyyppejä käytetään oletusasetuksena, jos testitilauksessa ei ole määritetty toisin.

- Aseta vähintään yhteen NeuMoDx System -testiliuskatelineeseen NeuMoDx HPV Test Strip(s) -testiliuskoja ja lisää testiliuskatelineet NeuMoDx System -järjestelmään kosketusnäytön avulla.
- Jos NeuMoDx System -järjestelmän ohjelma pyytää lisäämään tarvikkeita, lisää tarvittavat tarvikkeet NeuMoDx System -järjestelmän tarviketelineisiin ja lisää telineet NeuMoDx System -järjestelmään kosketusnäytön avulla.
- Jos NeuMoDx System -järjestelmän ohjelmisto niin kehottaa, vaihda NeuMoDx Wash Reagent -pesureagenssi, NeuMoDx Release Reagent -irrotusagenssi, tyhjennä esitäytön jäte, biovaarallisen jätteen säiliö (vain NeuMoDx 288 Molecular System), kärkien jätteastia (vain NeuMoDx 96 Molecular System) tai biovaarallisen jätteen astia (vain NeuMoDx 96 Molecular System) kehotteen mukaan.
- Aseta näyteputket näyteputkelineeseen ja varmista, että kaikkien putkien korkit on poistettu.
- Aseta näyteputkeline(et) automaattilataimen hyllylle ja lisää teline(et) NeuMoDx System -järjestelmään kosketusnäytön avulla. Tämä käynnistää lisättyjen näytteiden käsittelyn määritetyissä testeissä, kunhan järjestelmässä on voimassa oleva testitilaus.

RAJOITUKSET

- NeuMoDx HPV Test Strip -testiliuskaa voi käyttää vain NeuMoDx System -järjestelmissä.
- NeuMoDx HPV Test Strip -testiliuskan suorituskyky on vahvistettu käytettäessä näytteitä, jotka on valmistettu PreservCyt- tai SurePath-liuoksessa tai vastaavassa sytologia-aineessa säilytetystä kohdunkaulan näytteistä (raaputusnäyte). NeuMoDx HPV Test Strip -testiliuskan käyttöä muiden lähteiden kanssa ei ole arvioitu, eikä sen suorituskykyominaisuuksia muilla näytetyypeillä tai keräysaineilla tunneta.

- Vain Viral Lysis Buffer -lyysauspuskurilla esikäsiteltyjä SurePath-näytteitä voidaan käyttää NeuMoDx Molecular System -järjestelmissä. Laimentamattomista näytteistä voidaan saada epäkelvöllisiä tai epäoptimaalisia tuloksia.
- Koska näytteessä olevien organismien määrä vaikuttaa HPV:n tunnistamiseen, näytteiden oikeanlainen kerääminen, käsittely ja säilytys vaikuttavat tulosten luotettavuuteen.
- Näytteiden virheellinen ottaminen, käsittely, säilytys, tekninen virhe tai näyteputkien sekaantuminen voivat aiheuttaa virheellisiä testituloksia. Vääriä negatiivisia testituloksia voidaan saada myös silloin, kun näytteessä olevien virushiukkasten määrä on NeuMoDx HPV Assay -määrityksen tunnistusrajan alapuolella.
- NeuMoDx System -järjestelmää saa käyttää ainoastaan NeuMoDx System -järjestelmän käyttökoulutusta saanut henkilöstö.
- Jos HPV-kohteet ja β -globiini-kohteet eivät kumpikaan monistu, järjestelmä raportoi epäkelvollisen tuloksen (Indeterminate [Epäselvä], No Result [Ei tulosta] tai Unresolved [Ratkaisematon]) ja testi on toistettava.
- Positiivinen tulos ei välttämättä tarkoita, että näytteessä on elinkelpoista HPV:tä. Positiivinen tulos kuitenkin viittaa HPV:n DNA:n todennäköiseen läsnäoloon.
- Delaatiot ja mutaatiot NeuMoDx HPV Assay -määrityksen kohteena olevilla konservoituneilla alueilla voivat vaikuttaa havaitsemiseen ja johtaa virheelliseen tulokseen.
- NeuMoDx HPV Assay -määrityksen tuloksia tulisi käyttää kliinisten havaintojen ja muiden lääkärin käytettävissä olevien tietojen ohella.
- Kontaminoitumisen välttäminen edellyttää hyvän laboratoriokäytännön noudattamista, kuten käsineiden käyttämistä aina potilaiden näytteitä käsiteltäessä.

TULOSTEN KÄSITTELEMINEN

Tuloksia voidaan katsella ja tulostaa NeuMoDx System -järjestelmän kosketusnäytöstä, Results (Tulokset) -ikkunan Results (Tulokset) -välilehdestä. NeuMoDx System -järjestelmän ohjelma generoi NeuMoDx HPV Assay -määrityksen tulokset automaattisesti käyttämällä päätöslogiikkaa ja NeuMoDx HPV -testin määrittämistiedoston (HPV ADF) sisältämiä käsittelyparametreja. NeuMoDx HPV Assay -määrityksen tulos voi olla raportissa Negative (Negatiivinen), Positive (Positiivinen), Indeterminate (IND) (Epäselvä), No Result (NR) (Ei tulosta) tai Unresolved (UNR) (Ratkaisematon) kohteiden ja näytteen prosessikontrollin monistumistilan mukaan. Tulokset raportoidaan ADF-ratkaisualgoritmin perusteella ja niistä on yhteenveto taulukossa 1.

Kunkin kohteen Ct-kynnys määritettiin, ja ne on esitetty alla taulukossa 2 määrityksen kliinisen merkityksen tueksi. Joissain tapauksissa kohteen monistuskäyrä voi olla havaittavissa, vaikka raportoitu tulos on Negative (Negatiivinen). Tällainen raportti on yhdenmukainen NeuMoDx-yhtiön vahvistamien tulosten käsittelytapojen ja rajaehtojen kanssa.

Lääkärin täytyy arvioida NeuMoDx HPV Test -testin raportoimat tulokset muiden löydösten valossa.

Taulukko 1. HPV-määrityksen ratkaisualgoritmin yhteenveto

TULOS	HPV16	HPV18	Muu HPV	PROSESSIKONTROLI (βG)
POSITIVE (Positiivinen)	AMPLIFIED (Monistettu)	N/A [^] (Ei oleellinen)	N/A [^] (Ei oleellinen)	N/A [^] (Ei oleellinen)
POSITIVE (Positiivinen)	N/A [^] (Ei oleellinen)	AMPLIFIED (Monistettu)	N/A [^] (Ei oleellinen)	N/A [^] (Ei oleellinen)
POSITIVE (Positiivinen)	N/A [^] (Ei oleellinen)	N/A [^] (Ei oleellinen)	AMPLIFIED (Monistettu)	N/A [^] (Ei oleellinen)
NEGATIVE (Negatiivinen)	NOT AMPLIFIED (Ei monistettu)	NOT AMPLIFIED (Ei monistettu)	NOT AMPLIFIED (Ei monistettu)	AMPLIFIED (Monistettu)
IND (Epäselvä)	NOT AMPLIFIED, System Error Detected, Sample Processing Completed (Ei monistettu, järjestelmävirhe havaittu, näyte käsitelty)			
IND/NR* (Epäselvä/Ei tulosta)	NOT AMPLIFIED, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Ei monistettu, järjestelmävirhe havaittu, näytteen käsittely keskeytetty)			
UNR (Ratkaisematon)	NOT AMPLIFIED, No System Errors Noted (Ei monistettu, ei järjestelmävirhettä)			

* No Result (Ei tulosta) -merkintä näkyy vain NeuMoDx System -järjestelmän ohjelmistoversiossa 1.8 ja sitä uudemmissa versioissa.

[^] N/A = Ei oleellinen

Taulukko 2. Positiivisuuspäätösten Ct-raja-arvot

TULOS	HPV16	HPV18	Muu HPV	PROSESSIKONTROLI (βG)
POSITIVE (Positiivinen)	33	33	30	N/A (Ei oleellinen)*

* N/A = Ei oleellinen

Laadunvarmistus

Paikallisissa säädöksissä määritetään yleensä, että laboratorio vastaa sellaisten kontrollimenetelmien käytöstä, joilla valvotaan koko analysointiprosessin virheettömyyttä ja tarkkuutta. Laboratorion on määritettävä myös kontrollimateriaalien testauksen toistoväli, tyyppi ja määrä käyttämällä muuttamattoman, hyväksytyyn testijärjestelmän verifioituja suoritusasetietoja.

Käyttäjän määrittämät (ulkoiset) kontrollit

1. Laboratorion on valittava ja hyväksyntätestattava sopivat käyttäjän määrittämät kontrollit paikallisten ohjeistusten mukaisesti. Huomaa, että käyttäjän määrittämien kontrollien on täytettävä samat vähimmäismäärät kuin näyteputkelineen koon perusteella edellä määritettyjen kliinisten näytteiden.
2. Kun käsittelet käyttäjän määrittämiä kontrolleja, aseta merkityt kontrollit näyteputkelineeseen ja lisää teline NeuMoDx System -järjestelmään automaattilataimen hyllyltä kosketusnäytön avulla. Kun se on määritetty, NeuMoDx System tunnistaa viivakoodit ja aloittaa kontrollien käsittelyn.
3. On suositeltavaa, että käyttäjät käsittelevät yhdet positiiviset ja negatiiviset käyttäjän määrittämät kontrollit joka vuorokausi (24 tunnin välein).
4. Jos negatiivisella käyttäjän määrittämällä kontrollinäytteellä on raportissa positiivinen testitulos, näyte voi olla kontaminoitunut. Vianmäärittämissuhteita on NeuMoDx 288/96 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa.
5. Jos positiivisella käyttäjän määrittämällä kontrollinäytteellä on raportissa negatiivinen tulos, reagenssiin tai NeuMoDx System -järjestelmään saattaa liittyä ongelmia. Vianmäärittämissuhteita on NeuMoDx 288/96 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa.

Näytteen käsittelyn (sisäinen) kontrolli

β -globiini (β G) toimii endogeenisenä sisäisenä kontrollina, sillä sitä on kaikissa oikein kerätyissä kohdunkaulan raaputusnäytteissä. β G-kohde käy jokaisen näytteen mukana läpi koko nukleiinihapon eristysprosessin ja reaaliaikaisen PCR-monistuksen ja toimii samalla näytteen laaduntarkistuksena. Eri HPV-kohteiden alukkeiden ja koettimien lisäksi jokaiseen NeuMoDx HPV Test Strip -testiliuskaan sisältyvät β G-spesifiset alukkeet ja koettimet, mikä mahdollistaa β G:n ja kohde-HPV:n DNA:n (jos sitä on) tunnistuksen moninkertaisen PCR:n avulla. β G:n monistuksen tunnistuksen avulla NeuMoDx System -järjestelmän ohjelmisto voi valvoa näytteen keräämisen, DNA:n eristämisen ja PCR:n monistamisprosessien tehokkuutta.

NeuMoDx System -järjestelmän kontrollit

NeuMoDx System -järjestelmät tekevät erilaisia laitteen sisäisiä kontrollitarkistuksia seuraavasti:

1. Ennen PCR:ää NeuMoDx System tekee automaattisesti FILL CHECK (Täyttötarkistus) -toimenpiteen ja tarkistaa sillä, että PCR-kammio on täynnä liuosta ja sisältää riittävän määrän fluoresoivaa koetinta.
2. NeuMoDx System -järjestelmän ohjelmisto tarkkailee jatkuvasti laitteen antureita ja toimilaitteita ja varmistaa siten järjestelmän turvallisen ja tehokkaan toiminnan.
3. Aktiivinen aspiraatio- ja jakelutoimintojen tarkkailu ottaa käyttöön useita nestevirheestä palautumisen tiloja sen varmistamiseksi, että järjestelmä voi joko suorittaa kaikkien näytteiden käsittelyn loppuun turvallisesti ja tehokkaasti tai antaa asianmukaisen virhekoodin.
4. NeuMoDx System -järjestelmässä on automaattinen Rerun (Uusinta-ajo-) / Repeat (Toisto) -ominaisuus, jota käyttäjä voi päättää käyttäen sen varmistamiseksi, että INVALID (Epäkelpo) -tulos käsitellään automaattisesti uudelleen tulosten raportoinnin viiveiden minimoimista varten.

Epäkelvolliset tulokset

Jos NeuMoDx System -järjestelmällä tehdystä NeuMoDx HPV Assay -määrityksestä ei saada hyväksyttäviä tuloksia, sen kohdalla lukee raportissa Indeterminate (Epäselvä, IND), Unresolved (Ratkaisematon, UNR) tai No Result (Ei tulosta, NR) virhetyypin mukaan.

Raportissa on tuloksena IND (Epäselvä), jos NeuMoDx System -järjestelmä huomaa näytteen käsittelyn aikana järjestelmävirheen. Jos raportissa on IND (Epäselvä) -tulos, uusintatestausta suositellaan.

UNR (Ratkaisematon) -tulos saadaan, jos kelvollista HPV:n DNA:n tai β G:n monistusta ei havaita, mikä osoittaa mahdollisen reagenssin virheen tai estäjien läsnäolon. Jos raportissa on UNR (Ratkaisematon) -tulos, uusintatestausta suositellaan ensimmäisenä toimenä. Jos uusintatestaus epäonnistuu, näytteen inhibition vaikutuksia voidaan yrittää lieventää laimentamalla näytettä.

NR (Ei tulosta) -tulos saadaan, jos näytteen käsittely keskeytetään järjestelmävirheen takia. Jos raportissa on NR (Ei tulosta) -tulos, uusintatestausta suositellaan. Tämä merkintä näkyy vain NeuMoDx -järjestelmän ohjelmistoversiossa 1.8 ja sitä uudemmista versioista. Vanhemmissa ohjelmistoversioissa tämä virhe aiheuttaa tuloksen IND (Epäselvä).

SUORITUSKYKYOMINAISSUUDET

Analyttinen herkkyys

Havaitsemisraja (Limit of Detection, LoD) määritettiin käyttämällä sarjassa kolminkertaista gBlock (kaksisäikeiset blokit genomista DNA:ta) -laimennussarjaa, joissa oli amplikonimonistusalue kaikille kohteena oleville HPV-tyypeille (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67, 68) ja β -globiinille. Jokainen kuusiosaisesta laimennussarjasta valmisteltiin 2 000 ng/ml:n ihmisen DNA-taustaan (poikkeuksena β -globiini) ja pitoisuus testattiin 45 kertaa. Tutkimuksen tulokset, joissa LoD määritettiin 95 %:n havaitsemisanalysillä, on esitetty *taulukossa 3 alla*.

Taulukko 3. NeuMoDx HPV Assay -määrityksen havaitsemisraja (Limit of Detection, LoD) 15 hrHPV-tyypille ja β -globiinigeenille

Kohde	Havaitsemisraja (kopiota/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 -globiini	74 074

Analyttinen spesifisyys

NeuMoDx HPV Assay -määrityksen analyttinen spesifisyys määritettiin käyttämällä muiden kuin kohteena olevien HPV-genomien DNA:ta (*Taulukko 4*) pitoisuutena 1×10^6 kopiota/ml ja mahdollisesti patogeenisia emättimen mikro-organismeja, jotka on lueteltu *Taulukossa 5* pitoisuutena 1×10^6 CFU/ml tai 1×10^5 PFU/ml. Määrityksessä ei ilmennyt ristireaktiivisuutta muihin kuin kohteena oleviin HPV-tyyppeihin (6, 11, 26, 30, 34, 53, 69, 73, 82, 85) tai mikro-organismeihin. Positiivisia HPV Other (Muu HPV) -tuloksia saatiin HPV-tyypistä 70 – mahdollisesti, koska tyyppien 39, 68 ja 70 sekvenssit ovat hyvin samankaltaiset – sekä myöhemmässä titraustutkimuksessa, joka osoitti, että tämä tyyppi voitiin havaita pitoisuutena $\geq 4,12 \times 10^6$ kopiota/ml. HPV 70:tä pidetään mahdollisesti syöpää aiheuttavanakarsinogeenisenä epidemiologisten, fylogeneettisten ja toiminnallisten tutkimusten perusteella.

Taulukko 4. Muut kuin kohteena olevat HPV-tyypit, joiden ristireaktiivisuus arvioitiin

Muut kuin kohteena olevat HPV-genotyytit	
HPV 6	HPV 69
HPV 11	HPV 70
HPV 26	HPV 73
HPV 30	HPV 82
HPV 34	HPV 85
HPV 53	

Taulukko 5. Mikro-organismit, joiden ristireaktiivisuus arvioitiin

Mikro-organismi		
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>
Sytomegalovirus	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
<i>Treponema pallidum**</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	

* testattu pitoisuutena 1×10^5 (TCID₅₀)/ml

** tehty *in silico* -analysina

Analyttinen toistettavuus

NeuMoDx HPV Assay -määrityksen analyttinen toistettavuus arvioitiin käyttämällä samoja tietoja, kuin havaitsemisrajatutkimuksessa. Näytteet testattiin 3X LoD:ssä kolmessa eri NeuMoDx Molecular Systems -järjestelmässä, yhdessä N288-järjestelmässä ja kahdessa N96-järjestelmässä käyttämällä kolmeen eri erään kuuluvia NeuMoDx HPV Test Strips -testiliuskoja. Tietojen mukaan toistettavuus oli yleisesti erinomainen ja jokaisen testatun genotyypin enimmäis-CV oli 3,0 %, kuten on esitetty *Taulukossa 6*. Lisäksi näitä tietoja käytettiin todistamaan reagenssierien ja järjestelmien välinen toistettavuus, nämä tiedot *Taulukossa 7*.

Taulukko 6. Testatut hrHPV-genotyypit

Kohde	Tavoitepitoisuus	kopiota/ml	Havaitsemisanalyysi	CV yhteensä
β-globiini	3 X LoD	222 222	100 % (45/45)	1,8 %
HPV 16		24 691	100 % (44/44)	1,3 %
HPV 18		8 230	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 %

Taulukko 7. Erien ja järjestelmien välinen toistettavuus

Kohde	Erien vaihtelun CV			Järjestelmien vaihtelun CV		
	Erä 1	Erä 2	Erä 3	Järjestelmä 1 (N96)	Järjestelmä 2 (N288)	Järjestelmä 3 (N96)
β-globiini	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 %

Häiritsevät aineet

Keinotekoiisiin PreservCyt-näytteisiin lisättiin rekombinanttia bakulovirusta, johon kuului HPV-tyyppien 16, 18 ja 51 amplikonialueet ja β -globiinin pitoisuutena 1 000 kopiota/ml sekä taulukossa 8 luetellut aineet. Millään näistä aineista ei ollut merkittävää estävää vaikutusta määrittämisen suorituskäytön.

Taulukko 8. Testatut mahdollisesti häiritsevät aineet

	Aine	Pitoisuus
Endogeeninen	Kokoveri (ihmisen)	1 % (v/v)
	Leukosyytit	10 ⁶ solua/ml
	Musiini	1 % (v/v)
Eksogeeninen	Emätinhuuhe	1 % (v/v)
	Sienivoide	1 % (w/v)
	Spermisidi	1 % (w/v)
	Vaginalle tarkoitettu liukuvoide	1 % (w/v)
	Emätinsuihke	1 % (v/v)
	Ehkäisyvahto	1 % (w/v)

Näytteen vakaus laitteessa

HPV-tyyppien 16, 18 ja 51 sekä β -globiinin kohteet sisältävää rekombinanttia bakuloviruskontrollia lisättiin pitoisuudella $\sim 3 \times$ LOD kopiota/ml joko SurePath- tai PreservCyt-keräysaineeseen, ja näytteet käsiteltiin NeuMoDx HPV Assay -määrittämisellä. Käsitelyn päätyttyä kaikki positiiviset ja negatiiviset näyteputket jätettiin järjestelmän työalustalle 4, 8 ja 24 tunniksi ja testattiin sitten uudelleen. Odotettu tulos kaikkina testausajankohtina oli POSITIVE (POSITIIVINEN) kaikille sytologisille näytteille, joihin oli lisätty kohdetta, ja NEGATIVE (NEGATIIVINEN) (kaikille kohteille) sytologisille näytteille, joihin ei ollut lisätty kohdetta. 24 tunnin jälkeen havaittiin täydellinen yhtäpitävyys odotettujen tulosten kanssa, mikä osoitti 24 tunnin stabiiliuden testauslaitteessa NeuMoDx HPV Assay -määrittämisellä testattaessa. Tulosten yhteenveto esitetään alla taulukossa 9. PreservCyt-näytteissä havaittiin korkeintaan 20 %:n haihtuminen, kun näytteitä säilytettiin järjestelmässä 24 tuntia, mutta sillä ei ollut vaikutusta kohteiden tunnistamiseen testatuilla tasoilla.

Taulukko 9. Yhteenveto: näytteen vakaus laitteessa

Näytteen stabiilius laitteessa	Kohde	PreservCyt		SurePath	
		T ₀	24 tuntia	T ₀	24 tuntia
		Yhtäpitävyys %	Yhtäpitävyys %	Yhtäpitävyys %	Yhtäpitävyys %
Positiivinen setti	HPV 16	100 %	100 %	100 %	100 %
	HPV 18	100 %	100 %	100 %	100 %
	Muu HPV	100 %	100 %	100 %	100 %
	β -globiini	100 %	100 %	100 %	100 %
Negatiivinen setti	Negatiivinen (vain β -globiini)	100 %	100 %	100 %	100 %

Kliininen suorituskäyttö – PreservCyt-keräysaine

NeuMoDx HPV Assay -määrittämisen kliininen herkkyys ja spesifisyys vähintään tason 2 kohdunkaulan intraepiteeliselä neoplasialle (Cervical Intraepithelial Neoplasia grade 2, CIN2+) PreservCyt-liuokseen kerättyistä kohdunkaulan näytteistä arvioitiin non-inferioriteettitutkimuksella ja verrattiin vertailumäärittämiseen (korkean riskin HPV GP5+/6+-PCR-EIA) noudattaen kohdunkaulansyövän seulontoihin liittyvistä HPV-testien vaatimuksista annettuja kansainvälisiä ohjeistuksia.¹⁶ Tapaus-verrokkiasetelmassa testattiin 67 näytettä yli 30-vuotiailla naisilla, joilla oli histologisesti vahvistettu CIN2+ (tapausryhmä: Taulukko 10). Kliinisen spesifisyyden määrittämistä varten testattiin 823 peräkkäin koottua nestepohjaista sytologianäytettä. Näytteet oli kerätty seulontapopulaatiosta naisia, joilla oli normaali sytologia ja joilla ei ollut ilmennyt todisteita CIN2+-leesioista 2 vuoden seurantaajan aikana (verrokkiryhmä). NeuMoDx HPV Assay -määrittämisen yleinen onnistumisaste oli 99,4 % (818/823), katso taulukko 11. NeuMoDx HPV Assay -määrittämisen kliininen herkkyys CIN2+:lle oli 92,5 % (62/67); 95 %:n CI 83,3–96,9) ja kliininen spesifisyys CIN2+:lle oli 95,6 % (782/818; 95 %:n CI 92,2–97,6), joista kumpikaan ei ollut huonompi kuin vertailumäärittämisen GP5+/6+-PCR-EIA vastaavat tulokset ($P = 0,02$ ja $P < 0,0001$).

Taulukko 10. Kliininen herkkyys: tulokset 30 vuoden ikäisiltä ja vanhemmilta naisilta, joilla oli vahvistettu CIN2+, kerätyistä näytteistä

Vertailutestimääritys	NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	YHTEENSÄ
POS	61	2	63
NEG	1	3	4
YHTEENSÄ	62	5	67
NeuMoDx HPV Assay -määrityksen kliininen herkkyys: 92,5 % (95 %-n CI 83,3–96,9)			

Taulukko 11. Kliininen spesifisyys: tulokset naisilta, joilla oli normaali sytologia ja vahvistetusti ei CIN2+-leesioita, kerätyistä näytteistä

Vertailutestimääritys	NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	YHTEENSÄ
POS	28	19	47
NEG	8	763	771
YHTEENSÄ	36	782	818
NeuMoDx HPV Assay -määrityksen kliininen spesifisyys: 95,6 % (95 %-n CI 92,2-97,6)			

Alle 30-vuotiailta naisilta kerättiin 173 nestepohjaista sytologianäytettä. Naiset olivat poliklinikkahoidossa. NeuMoDx HPV Assay -määrityksen onnistumisaste oli 98,3 % (170/173) (Taulukko 12). NeuMoDx HPV Assay -määrityksen herkkyys CIN3+:n tunnistamiseen oli 91,1 % (41/45; 95 %-n CI 78,6–96,6) ja CIN3+:n suhteen spesifisyys oli 51,2 % (64/125; 95 %-n CI 42,5–60,0). Suhteelliset herkkyys- ja spesifisyysarvot verrattuna QIAScreen HPV PCR Test -testiin olivat 1,03 ja 1,10.

Taulukko 12. NeuMoDx HPV Assay -määrityksen suorituskyky < 30-vuotiaille naisille, ryhmitelty histologian ja QIAScreen HPV PCR Test -testin mukaan

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

Naisille, joilla oli ASC-US tai LSIL, kliininen herkkyys CIN2+:n osalta oli 91,7 % (11/12; 95 %-n CI 58,7–98,8) ja kliininen spesifisyys CIN2+:n osalta oli 75,0 % (15/20; 95 %-n CI 52,2–89,2) (Taulukko 13).

Taulukko 13. NeuMoDx HPV Assay -määrityksen suorituskyky naisilla, joilla oli ASC-US/LSIL-sytologia, ryhmitelty histologian ja vertailutestinmäärityksen tuloksen mukaan

Histologia	Vertailumääritys	NeuMoDx HPV Assay		
		NEG	POS	YHTEENSÄ
<=CIN1	NEG	13	-	13
	POS	2	5	7
	YHTEENSÄ	15	5	20
CIN2	NEG	-	-	-
	POS	-	6	6
	YHTEENSÄ	-	6	6
CIN3+	NEG	1	-	1
	POS	-	5	5
	YHTEENSÄ	1	5	6
YHTEENSÄ	NEG	14	-	14
	POS	2	16	18
	YHTEENSÄ	16	16	32

Kliininen suorituskyky – SurePath-keräysaine

NeuMoDx HPV Assay -määrityksen kliininen herkkyys ja spesifisyys CIN2+:n tunnistamisessa määritettiin testaamalla 948 SurePath-keräysaineeseen kerättyä kohdunkaulan raaputusnäytettä tapaus-verrokkiasetelmassa. NeuMoDx HPV Assay -määrityksen suhteellinen herkkyys ja spesifisyys CIN2+:n osalta verrattuna kliinisesti hyväksytyyn vertailumääritykseen (HPV-Risk-määritys) määritettiin tilastollisella menetelmällä, jota kutsutaan non-inferioriteettitestaukseksi.

Kliinisen herkkyyden määrittämisessä testattiin 106 näytettä naisilta, joilla oli diagnosoitu histologisesti vahvistettu CIN2+-tila (tapaukset). Naisten keskimääräinen ikä oli 38 vuotta (väli 30–58 vuotta). NeuMoDx HPV Assay -määrityksen herkkyyden määritettiin olevan 92,5 % (98/106; 95 %-n CI: 85,6–96,2) ja yhtä suuri kuin HPV-Risk-vertailumäärityksen (taulukko 14). NeuMoDx HPV Assay -määrityksen suhteellinen herkkyys HPV-Risk-määritykseen verrattuna oli 1,00 ja non-inferioriteettitestauksesta saatu arvo $P = 0,0009$.

Kliininen spesifisyys määritettiin 842 LBC-näytteestä (SurePath), jotka kerättiin seulontapopulaatiosta naisilta, joilla oli normaali sytologia ja joilla ei ollut ilmennyt todisteita CIN2+-leesioista 2 vuoden seurantajakson aikana. Naisten keskimääräinen ikä oli 43 vuotta (väli 30–59 vuotta), ja 98,6 % (935/948) näytteistä sai hyväksyttävän testituloksen. NeuMoDx HPV Assay -määrityksen spesifisyys oli 93,5 % (775/829; 95 %-n CI: 91,6–95,0), HPV-Risk-vertailumäärityksen 91,9 % (762/829; 95 %-n CI: 89,9–93,6) (taulukko 15). NeuMoDx HPV Assay -määrityksen suhteellinen spesifisyys HPV-Risk-määritykseen verrattuna oli 1,02 ja non-inferioriteettitestauksesta saatu arvo $P < 0,0001$.

Taulukko 14. Kliininen herkkyys: tulokset näytteistä, jotka oli kerätty SurePath-keräysaineeseen naisilta, joilla oli vahvistettu CIN2+

Vertailutestimääritys	NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	YHTEENSÄ
POS	97	1	98
NEG	1	7	8
YHTEENSÄ	98	8	106
NeuMoDx HPV Assay -määrityksen kliininen herkkyys: 92,5 % (95 %-n CI 85,6-96,2)			

Taulukko 15. Kliininen spesifisyys: tulokset näytteistä, jotka oli kerätty SurePath-keräysaineeseen naisilta, joilla oli normaali sytologia ja vahvistetusti ei CIN2+-leesioita

Vertailutestimääritys	NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	YHTEENSÄ
POS	48	6	54
NEG	19	756	775
YHTEENSÄ	67	775	842
NeuMoDx HPV Assay -määrityksen kliininen spesifisyys: 93,5 % (95 %-n CI 91,6-95,0)			

Kliininen toistettavuus

PreservCyt-liuokseen kerättyjen kliinisten näytteiden testauksen laboratorion sisäinen toistettavuus ja laboratorioden välinen yhteneväisyys arvioitiin kohdunkaulasyövän seulontoihin liittyvien HPV-testien vaatimuksista annettujen kansainvälisten ohjeistusten mukaan.¹⁶ Laboratorion sisäinen toistettavuus kohdunkaulasta otettujen näytteiden kohdasta koko tutkimuksen ajalta oli 96,0 % (484/504; 95 %-n CI 94,3–97,4) ja kappa-arvo (κ) oli 0,90 (Taulukko 16). Näiden testausohjeiden tulosten yhteneväisyys arvioitiin vastaavien toisessa laboratoriossa saatujen vastaavien tulosten kanssa, jolloin laboratorioden välinen yhteneväisyys oli 96,4 % (486/504; 95 %-n CI 94,8–97,7), jossa $\kappa = 0,91$, ensimmäiselle testausohjeelle ja 94,4 % (476/504; 95 %-n CI 92,5–96,1), jossa $\kappa = 0,86$, toiselle testausohjeelle (Taulukko 17).

Taulukko 16. NeuMoDx HPV Assay -määrityksen laboratorion sisäinen toistettavuus tutkimuksen aikana

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

Taulukko 17: NeuMoDx HPV Assay -määrityksen laboratorioden välinen yhteneväisyys

NeuMoDx HPV Assay – Ulkoinen testi	NeuMoDx HPV Assay – Sisäinen testitulos 1			NeuMoDx HPV Assay – Sisäinen testitulos 2			
	NEG	POS	YHTEENSÄ	NEG	POS	YHTEENSÄ	
NEG	355	13	368	347	21	368	
POS	5	131	136	7	129	136	
YHTEENSÄ	360	144	504	354	150	504	
			96,4 %:n yhteneväisyys (95 %:n CI 94,8–97,7); $\kappa = 0,91$				94,4 %:n yhteneväisyys (95 %:n CI 92,5-96,1); $\kappa = 0,86$

LÄHDEVIITTEET

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.

TAVARAMERKIT

NeuMoDx™ ja NeuDry™ ovat NeuMoDx Molecular, Inc:n tavaramerkkejä.

Hamilton® on Hamilton Companyn rekisteröity tavaramerkki.

PreservCyt® on Hologic, Inc:n rekisteröity tavaramerkki.

SurePath™ on Becton Dickinsonin (BD) tavaramerkki.

Kaikki muut tuotenimet, tavaramerkit ja rekisteröidyt tavaramerkit, joita mahdollisesti tässä asiakirjassa mainitaan, ovat omien omistajiensa omaisuutta.

SYMBOLIEN SELITYKSET

R only Vain lääkärin määräyksestä


 Valmistaja


IVD *In vitro* -diagnostinen lääkinällinen laite


EC REP Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä

REF Luettelonumero


LOT Eräkoodi


 Viimeinen käyttöpäivämäärä


 Lämpötilarajoitus

 Ei saa käyttää uudelleen

 Sisältö riittää <n> testiin

 Lue käyttöohjeet

 Huomio

 Biologiset vaarat

CE CE-merkki



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

Toimeksiantaja (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



Tekninen tuki / haittatapahtumaraportointi: support@qiagen.com

Patentti: www.neumodx.com/patents