

REF 617007 NeuMoDx™ HPV Test Strip

R only

CUIDADO: Apenas para exportação dos EUA

IVD Para utilização em diagnóstico *in vitro* no NeuMoDx 288 Molecular System e no NeuMoDx 96 Molecular System

 A versão eletrônica está disponível em www.qiaagen.com/neumodx-ifu

Para obter instruções detalhadas, consultar o Manual do Operador NeuMoDx 288 Molecular System; P/N 40600108

Para obter instruções detalhadas, consultar o Manual do Operador NeuMoDx 96 Molecular System; P/N 40600317

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O NeuMoDx HPV Assay, conforme executado no NeuMoDx 96 Molecular System e no NeuMoDx 288 Molecular System (NeuMoDx System[s]), é um ensaio rápido e automatizado, de diagnóstico *in vitro*, de amplificação de ácido nucleico baseado em PCR em tempo real para a detecção qualitativa de tipos de alto risco de ADN de vírus do papiloma humano (human papillomavirus, HPV) em espécimes cervicais. O teste identifica especificamente HPV 16 e HPV 18, detetando em simultâneo os restantes tipos de alto risco (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 e 68) em níveis de infeção clinicamente relevantes. Os espécimes cervicais que podem ser testados com o NeuMoDx HPV Assay incluem espécimes cervicais colhidos por um médico, utilizando um dispositivo de colheita do tipo escova/vassoura, conservados em PreservCyt® (HOLOGIC) e citologia à base de líquido SurePath™ (BD). O ensaio destina-se a ser utilizado como teste primário no rastreio de mulheres com idade igual ou superior a 21 anos quanto ao risco de (pré-)cancro do colo do útero para determinar a necessidade de encaminhamento para colposcopia ou outros procedimentos de acompanhamento e como teste de acompanhamento para mulheres com resultados de teste de Papanicolau com células escamosas atípicas de significado indeterminado (atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US) ou lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (low-grade squamous intraepithelial lesion, LSIL) para determinar a necessidade de encaminhamento para colposcopia ou outros procedimentos de acompanhamento. Estas informações, juntamente com a avaliação médica do histórico de citologia, outros fatores de risco e as diretrizes profissionais, podem ser utilizadas para orientar a gestão do paciente.

Este produto destina-se a ser utilizado por utilizadores profissionais, como técnicos e técnicos de laboratórios com formação em procedimentos de diagnóstico *in vitro* e técnicas biológicas moleculares.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

O cancro do colo do útero e as suas lesões precursoras (Neoplasia Intraepitelial Cervical, CIN) são causados por uma infeção persistente com um tipo de vírus do papiloma humano (Human Papillomavirus, HPV) de alto risco.¹⁻³ O HPV pertence à família dos papillomaviridae e são pequenos vírus de ADN de cadeia dupla. O genoma circular apresenta um tamanho de aproximadamente 7,9 quilo bases. Foram identificados mais de 100 tipos de HPV, dos quais determinados tipos de HPV, conhecidos como HPV de alto risco (High-Risk HPV, hrHPV) como o HPV 16 e 18, são associados à indução de lesões mucosas que podem evoluir para a malignidade. O genoma viral contém genes precoces (Early, E) e genes tardios (Late, L) que codificam proteínas necessárias ao estágio inicial e avançado do ciclo de vida do HPV, respetivamente. Os produtos dos genes E6 e E7 dos tipos hrHPV possuem propriedades carcinogénicas e são necessários para a transformação maligna da célula hospedeira.⁴ A evolução maligna é frequentemente associada à integração viral no genoma da célula hospedeira.⁵ Os resultados da integração na interrupção do genoma viral numa região que pode abranger a fase de leitura aberta entre o E1 e o L1.⁶ Isto pode ter consequências na amplificação por PCR de ADN viral nestas regiões. Não apenas a iniciação, mas também a manutenção do fenótipo transformado depende da expressão contínua das oncoproteínas virais, a região E6/E7 viral é mantida de forma invariável em genomas virais integrados em cancros do colo do útero.^{6,7,8}

O cancro do colo do útero é uma complicação rara de uma infeção por HPV. O risco permanente de uma infeção por hrHPV é estimado em aproximadamente 80% e a grande maioria das infeções é suprimida pelo sistema imunitário e não dá origem a lesões.⁹ Após a supressão da infeção por HPV, as lesões devido a CIN geralmente regredem.¹⁰

Os testes de ADN de HPV proporcionam melhor proteção contra o cancro do colo do útero e as respetivas lesões precursoras CIN comparativamente a uma análise citomorfológica (por ex., esfregaço de Papanicolau) em amostras cervicais em rastreio primário em mulheres com 30 ou mais anos e triagem de mulheres com 21 ou mais anos com citologia cervical de ASC-US (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) ou LSIL (Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion, LSIL).¹¹⁻¹⁵ O rastreio de cancro do colo do útero baseado em HPV primário é implementado em vários países globalmente, tendo sido publicadas diretrizes internacionais sobre os requisitos de teste de ADN de HPV para o rastreio desse cancro.¹⁶ O NeuMoDx HPV Assay tem como alvo uma região conservada no gene E7 do genoma de HPV, superando desse modo possíveis resultados falso-negativos na integração viral no genoma hospedeiro.

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O NeuMoDx HPV Assay combina a extração automatizada de ADN e a amplificação/detecção PCR em tempo real. Os espécimes cervicais são colhidos em solução líquida de citologia e, em seguida, transferidos para um tubo de espécime secundário compatível, com código de barras, que é colocado no NeuMoDx System. O NeuMoDx System aspira automaticamente uma alíquota do espécime para misturar com NeuMoDx Lysis Buffer 2 e com os reagentes contidos na NeuMoDx Extraction Plate para iniciar o processamento. O NeuMoDx System automatiza e integra a extração e concentração de ADN, a preparação de reagentes e a amplificação/detecção de ácidos nucleicos das sequências-alvo, utilizando PCR em tempo real. O ADN de β-globina (βG) que está presente em cada espécime devidamente colhido serve como um controlo de processo de amostra endógena e ajuda a monitorizar a presença de substâncias inibidoras e falhas do sistema, processo ou reagente. Não é necessária qualquer intervenção por parte do operador depois de o espécime e os consumíveis necessários serem carregados no NeuMoDx System.

O NeuMoDx System desempenha automaticamente a lise, a extração de ADN e a remoção de inibidores. Os ácidos nucleicos libertados são capturados por partículas paramagnéticas. As partículas, com os ácidos nucleicos ligados, são carregadas no NeuMoDx Cartridge, onde os elementos não ligados são retirados por lavagem, utilizando o NeuMoDx Wash Reagent. O ADN ligado é então eluído utilizando o NeuMoDx Release Reagent. O NeuMoDx System utiliza o ADN eluído para reidratar os reagentes de amplificação NeuDry™ patenteados que contêm todos os componentes necessários para 40 ciclos de amplificação dos 15 alvos HPV (se presentes), assim como o alvo β -globina. Isto permite a amplificação e deteção simultâneas dos alvos e das sequências de ADN de controlo. Depois da reconstituição de reagentes de PCR secos, o NeuMoDx System dispensa a mistura preparada e pronta para PCR numa câmara de PCR (por espécime) do NeuMoDx Cartridge. A amplificação e deteção de sequências de controlo e alvo (se presentes) ocorrem na câmara de PCR. O NeuMoDx Cartridge foi concebido para conter o amplificação decorrente da PCR, eliminando essencialmente o risco de contaminação após a amplificação.

Os alvos amplificados são detetados em tempo real utilizando química de sondas de hidrólise (habitualmente referida como química TaqMan®), utilizando moléculas de sondas fluorogénicas de oligonucleotídeos específicas dos amplicões dos seus respetivos alvos. As sondas TaqMan consistem num fluoróforo covalentemente ligado à extremidade de 5' da sonda de oligonucleotídeos e num supressor na extremidade de 3'. Enquanto a sonda estiver intacta, o fluoróforo e o supressor estão próximos, permitindo que a molécula supressora extinga a fluorescência emitida pelo fluoróforo via Transferência de energia por ressonância de Förster (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

As sondas TaqMan foram concebidas de forma a hibridizar dentro de uma região de ADN amplificada por um conjunto específico de iniciadores. À medida que a Polimerase Taq de ADN expande o iniciador e sintetiza a nova cadeia, a atividade exonuclease de 5' a 3' da Polimerase Taq de ADN degrada a sonda que foi hibridizada com o modelo. A degradação da sonda liberta o fluoróforo e quebra a sua proximidade com o supressor, ultrapassando assim o efeito de supressão devido ao FRET e permitindo a deteção do fluoróforo. O sinal de fluorescência resultante, detetado no termociclador de PCR do NeuMoDx System é diretamente proporcional ao fluoróforo libertado e pode ser correlacionado com a quantidade de alvo presente.

É utilizada uma sonda TaqMan marcada com fluoróforo na extremidade de 5' e um supressor de fluorescência na extremidade de 3' para detetar HPV 16 (470/510 nm), HPV 18 (625/660 nm) e os restantes tipos de alto risco (AR) clinicamente relevantes ("HPV Other" [HPV Outro]; 530/555 nm). Para deteção da β -globina, a sonda TaqMan é marcada com um marcador fluorescente alternativo (585/610 nm) na extremidade de 5' e um supressor de fluorescência na extremidade de 3'. O software do NeuMoDx System monitoriza o sinal fluorescente emitido pelas sondas TaqMan no final de cada ciclo de amplificação. Quando a amplificação estiver concluída, o software do NeuMoDx System analisa os dados e comunica um resultado (POSITIVE [POSITIVO]/NEGATIVE [NEGATIVO]/INDETERMINATE [INDETERMINADO]/UNRESOLVED [NÃO RESOLVIDO]/NO RESULT [SEM RESULTADOS]).

REAGENTES/CONSUMÍVEIS

Material fornecido

REF	Conteúdo	Unidades por embalagem	Testes por unidade	Testes por embalagem
617007	NeuMoDx HPV Test Strip <i>Reagentes de PCR secos contendo iniciadores e sonda TaqMan® específicos do HPV e βG</i>	6	16	96

Material necessário, mas não fornecido (disponibilizados em separado pela NeuMoDx)

REF	Conteúdo
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Partículas paramagnéticas, enzimas líticas e controlo de β-globina secos</i>
400500	NeuMoDx Lysis Buffer 2
401600	NeuMoDx Viral Lysis Buffer*
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Pontas Hamilton® CO-RE/CO-RE II (300 μL) com filtros
235905	Pontas Hamilton CO-RE/CO-RE II (1000 μL) com filtros

*Necessário para processamento de amostras em SurePath pré-tratadas

Instrumentos necessários

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

AVISOS E PRECAUÇÕES

- A NeuMoDx HPV Test Strip destina-se apenas para utilização em diagnóstico *in vitro* com NeuMoDx Systems.
- Não utilizar os consumíveis ou reagentes depois da data de validade indicada.
- Não utilizar quaisquer reagentes que tenham o selo de segurança aberto ou cuja embalagem tenha sido danificada ao chegar ao destino.
- Não utilizar consumíveis ou reagentes cuja bolsa protetora tenha sido aberta ou danificada ao chegar ao destino.
- O volume mínimo de espécime de alíquotas secundárias depende do tamanho do tubo/transportador de tubos de espécime, tal como definido abaixo. Volumes inferiores ao mínimo especificado poderão resultar num erro "Quantity Not Sufficient" (Quantidade insuficiente).
- A utilização de espécimes armazenados a temperaturas inadequadas ou para além dos períodos de armazenamento especificados poderá produzir resultados inválidos ou erróneos.
- Apenas os espécimes em SurePath pré-tratados com Viral Lysis Buffer podem ser utilizados nos NeuMoDx Molecular Systems. Os espécimes puros podem produzir resultados inválidos ou não ideais.
- Até 20% da evaporação do espécime foi observado em estudos de validação realizados para avaliar a estabilidade do espécime no sistema devido à elevada volatilidade do meio de colheita PreservCyt. Não é previsto que tal afete negativamente os resultados da amostra, mas deve ser tido em consideração ao preparar as amostras para o processamento atrasado. Não foi observada uma evaporação significativa nos espécimes em SurePath pré-tratados.
- Evitar a contaminação microbiana e por desoxirribonuclease (DNase) de todos os reagentes e consumíveis. É recomendada a utilização de pipetas de transferência descartáveis, estéreis e isentas de DNase ao utilizar tubos secundários. Utilizar uma nova pipeta para cada espécime.
- Para evitar a contaminação, não manusear nem destruir um NeuMoDx Cartridge após a amplificação. Não recuperar NeuMoDx Cartridges do contentor de resíduos de risco biológico (NeuMoDx 288 Molecular System) ou do recipiente de resíduos de risco biológico (NeuMoDx 96 Molecular System) em quaisquer circunstâncias. O NeuMoDx Cartridge foi concebido para prevenir a contaminação.
- Nos casos em que são também realizados em laboratório testes de PCR de tubo aberto, é necessário ter atenção para assegurar que a NeuMoDx HPV Test Strip, os consumíveis e reagentes adicionais necessários para testes, o equipamento de proteção individual, tal como luvas e batas de laboratório, e o NeuMoDx System não são contaminados.
- Devem ser utilizadas luvas de nitrilo, sem pó e limpas durante o manuseio de reagentes e consumíveis NeuMoDx. É necessário ter especial cuidado para não tocar na parte superior da superfície do NeuMoDx Cartridge, na superfície da película de alumínio da NeuMoDx HPV Test Strip e NeuMoDx Extraction Plate ou na parte superior da superfície do NeuMoDx Lysis Buffer 2; o manuseamento dos consumíveis e reagentes deve ser feito tocando apenas nas superfícies laterais.
- São fornecidas fichas de dados de segurança (Safety Data Sheets, SDS) para cada reagente (conforme aplicável) em www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Lavar muito bem as mãos depois de realizar o teste.
- Não pipetar com a boca. Não fumar, beber ou comer em áreas onde estiverem a ser manuseados espécimes ou reagentes.
- Manusear sempre os espécimes como se fossem infecciosos e de acordo com os procedimentos laboratoriais de segurança, tal como os descritos na publicação *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁷ e no documento M29-A4 do CLSI.¹⁸
- Eliminar os reagentes não utilizados e os resíduos de acordo com os regulamentos nacionais, regionais e locais.
- Não reutilizar.

ARMAZENAMENTO, TRATAMENTO E ESTABILIDADE DO PRODUTO

- As NeuMoDx HPV Test Strips permanecem estáveis dentro da embalagem primária até à data de validade indicada na etiqueta do produto, quando armazenadas a temperaturas entre 15 e 23 °C.
- Não carregue novamente qualquer produto de teste que tenha sido previamente carregado *noutro* NeuMoDx System.
- Uma vez carregada, a NeuMoDx HPV Test Strip pode permanecer a bordo do NeuMoDx System durante 14 dias. O prazo de validade restante de tiras de teste carregadas é controlado pelo software e comunicado ao utilizador em tempo real. O sistema irá solicitar a remoção das tiras de teste que tenham sido utilizadas para além do período permitido.

COLHEITA, MANUSEAMENTO, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DE ESPÉCIMES

1. O NeuMoDx HPV Assay destina-se a ser utilizado com amostras obtidas a partir de espécimes cervicais. Os meios de colheita validados para espécimes cervicais são PreservCyt e SurePath. Siga as instruções do fabricante do dispositivo para colheita de espécimes relativamente à preparação e ao armazenamento.
2. Os espécimes em SurePath devem ser pré-tratados antes da sua utilização, de acordo com as instruções específicas abaixo.
3. **As amostras refrigeradas devem ser estabilizadas à temperatura ambiente durante, pelo menos, 30 minutos antes do processamento para garantir um desempenho adequado do sistema.**

- Os espécimes cervicais preparados podem ser armazenados no NeuMoDx System até 24 horas antes do processamento. Se for necessário tempo adicional de armazenamento, é recomendado que os espécimes sejam armazenados de acordo com as seguintes indicações:

Espécimes cervicais em **PreservCyt**:

- Até 6 semanas após a amostragem quando armazenados a 15–25 °C
- Até 3 meses após a amostragem quando armazenados a 2–8 °C
- Até 8 anos quando armazenados a -80 °C. Se os espécimes forem congelados, permita o descongelamento total à temperatura ambiente (15–30 °C) e agite no vórtex para criar uma amostra uniformemente distribuída.

Espécimes cervicais em **SurePath**:

- Até 30 dias após a amostragem, quando armazenados a 2–30 °C
 - Até 180 dias após a amostragem, quando armazenados a 2–8 °C
 - Até 180 dias, quando armazenados a -20 °C. Se os espécimes forem congelados, permita o descongelamento total à temperatura ambiente (15–30 °C) e agite no vórtex para criar uma amostra uniformemente distribuída.
- Se os espécimes forem expedidos, estes devem ser embalados e etiquetados em conformidade com os regulamentos nacionais e/ou internacionais aplicáveis.
 - Etiquetar claramente os espécimes e indicar que são para testes de HPV.

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Preparação para teste – PRESERVCYT

- Aplicar a etiqueta de código de barras de espécime a um tubo de espécime compatível com o NeuMoDx System.
- Colocar o tubo etiquetado com código de barras num transportador de tubos de espécime e garantir que a tampa é removida antes de o carregar no NeuMoDx System.
- Proceder à alíquota do espécime de acordo com os volumes definidos abaixo para amostras em **PreservCyt**:
 - Transportador de tubos de espécime (32 tubos): 11–14 mm de diâmetro e 60–120 mm de altura, volume mínimo de enchimento = 400 µL
 - Transportador de tubos de espécime (24 tubos): 14,5–18 mm de diâmetro e 60–120 mm de altura, volume mínimo de enchimento = 850 µL
 - Transportador de tubos de espécime de baixo volume (32 tubos): Tubo de microcentrifuga com base cônica de 1,5 mL, volume mínimo de enchimento = 250 µL

Preparação para teste – SUREPATH

- Efetuar o pré-tratamento do espécime em SurePath com um volume 1:1 de NeuMoDx Viral Lysis Buffer e misturar bem. Utilizar o volume apropriado para cumprir o volume mínimo de espécime, tal como definido abaixo.
- Incubar a 90 °C durante 20 minutos e, em seguida, permitir a estabilização à temperatura ambiente antes de continuar.
- Aplicar a etiqueta de código de barras de espécime a um tubo de espécime compatível com o NeuMoDx System.
- Colocar o tubo etiquetado com código de barras num transportador de tubos de espécime e garantir que a tampa é removida antes de o carregar no NeuMoDx System.
- Proceder à alíquota do espécime de acordo com os volumes definidos abaixo para amostras em **SurePath**:
 - Transportador de tubos de espécime (32 tubos): 11–14 mm de diâmetro e 60–120 mm de altura, volume mínimo de enchimento = 450 µL
 - Transportador de tubos de espécime (24 tubos): 14,5–18 mm de diâmetro e 60–120 mm de altura, volume mínimo de enchimento = 800 µL
 - Transportador de tubos de espécime de baixo volume (32 tubos): Tubo de microcentrifuga com base cônica de 1,5 mL, volume mínimo de enchimento = 300 µL

Operação do NeuMoDx System

Para obter instruções detalhadas, consultar os Manuais do Operador do NeuMoDx 288 Molecular System e do NeuMoDx 96 Molecular System (P/N 40600108 e 40600317)

- Carregar o pedido de teste no NeuMoDx System de acordo com o tipo de espécime desejado.
 - As amostras em PreservCyt são testadas definindo o espécime como "Cytology" (Citologia).
 - As amostras em SurePath são testadas definindo o espécime como "UserSpecified1".

Caso não seja definido no pedido de teste, o tipo de espécime PreservCyt será utilizado como predefinição.

- Preencher um ou mais transportadores de tiras de teste do NeuMoDx System com NeuMoDx HPV Test Strip(s) e utilizar o ecrã tátil para carregar o(s) transportador(es) de tiras de teste no NeuMoDx System.

3. Se tal for solicitado pelo software do NeuMoDx System, adicionar os consumíveis necessários aos transportadores de consumíveis do NeuMoDx System e utilizar o ecrã tátil para carregar o(s) transportador(es) no NeuMoDx System.
4. Se tal for solicitado pelo software do NeuMoDx System, substituir o NeuMoDx Wash Reagent, o NeuMoDx Release Reagent, esvaziar os resíduos de iniciação, o contentor de resíduos de risco biológico (apenas NeuMoDx 288 Molecular System), o recipiente de resíduos de pontas (apenas NeuMoDx 96 Molecular System) ou o recipiente de resíduos de risco biológico (apenas NeuMoDx 96 Molecular System), conforme apropriado.
5. Carregar os tubos de espécimes no transportador de tubos de espécime e certificar-se de que as tampas foram removidas de todos os tubos.
6. Colocar o(s) transportador(es) de tubos de espécime na prateleira do carregador automático e utilizar o ecrã tátil para carregar o(s) transportador(es) no NeuMoDx System. Tal irá iniciar o processamento dos espécimes carregados para os testes identificados, desde que esteja presente no sistema um pedido de teste válido.

LIMITAÇÕES

1. A NeuMoDx HPV Test Strip apenas pode ser utilizada em NeuMoDx Systems.
2. O desempenho da NeuMoDx HPV Test Strip foi estabelecido para utilização com amostras obtidas de espécimes cervicais (esfregaços) em PreservCyt, SurePath ou meios de citologia equivalente. A utilização da NeuMoDx HPV Test Strip com outras fontes não foi avaliada e as características de desempenho são desconhecidas com outros tipos de espécimes ou meios de colheita.
3. Apenas os espécimes em SurePath pré-tratados com Viral Lysis Buffer podem ser utilizados nos NeuMoDx Molecular Systems. Os espécimes puros podem produzir resultados inválidos ou não ideais.
4. Uma vez que a deteção de HPV está dependente da quantidade de tecido presente na amostra, os resultados fiáveis dependem da colheita, do tratamento e do armazenamento adequados do espécime.
5. Podem ocorrer resultados erróneos devido à colheita, ao manuseamento e ao armazenamento inadequados dos espécimes, a erros técnicos ou à confusão de tubos de espécime. Para além disso, podem ocorrer falsos resultados negativos porque o número de partículas virais presente na amostra está abaixo do limite de deteção do NeuMoDx HPV Assay.
6. A operação do NeuMoDx System apenas pode ser realizada por pessoal com formação para utilizar o NeuMoDx System.
7. Se os alvos HPV e o alvo β -globina não forem amplificados, é comunicado um resultado inválido (Indeterminate [Indeterminado], No Result [Nenhum resultado] ou Unresolved [Não resolvido]) e o teste deverá ser repetido.
8. Um resultado positivo não indica necessariamente a presença de HPV viáveis. No entanto, um resultado positivo pressupõe a presença de ADN de HPV.
9. Eliminações ou mutações nas regiões conservadas visadas pelo NeuMoDx HPV Assay podem afetar a deteção e originar um resultado incorreto.
10. Os resultados do NeuMoDx HPV Assay devem ser utilizados como complemento às observações clínicas e a outras informações à disposição do médico.
11. São recomendadas boas práticas de laboratório, incluindo a troca de luvas entre o manuseamento de espécimes de pacientes, de forma a evitar a contaminação.

PROCESSAMENTO DE RESULTADOS

Os resultados disponíveis podem ser visualizados ou impressos a partir do separador "Results" (Resultados) na janela Results (Resultados) do ecrã tátil do NeuMoDx System. Os resultados do NeuMoDx HPV Assay são criados automaticamente pelo software do NeuMoDx System, utilizando o algoritmo de decisão e os parâmetros de processamento de resultados especificados no ficheiro de definição de ensaio do NeuMoDx HPV (HPV ADF). Um resultado do NeuMoDx HPV Assay pode ser comunicado como Negative (Negativo), Positive (Positivo), Indeterminate (Indeterminado) (IND), No Result (Nenhum resultado) (NR) ou Unresolved (Não resolvido) (UNR) com base no estado de amplificação dos alvos e do controlo de processo de amostra. Os resultados são comunicados com base no algoritmo de decisão do ADF, resumido na *Tabela 1* abaixo.

Os limiares de Ct para cada um dos alvos foram estabelecidos e são apresentados na *Tabela 2* abaixo para alinhamento com a relevância clínica do ensaio. Poderão existir cenários nos quais é observada uma curva de amplificação do alvo, mas é comunicado um resultado Negative (Negativo). Esta comunicação é consistente com o processamento de resultados e os critérios de limite validados pela NeuMoDx.

Os resultados comunicados pelo NeuMoDx HPV Test devem ser avaliados pelo médico no contexto de outros resultados.

Tabela 1. Resumo do algoritmo de decisão do ensaio de HPV

RESULTADO	HPV16	HPV18	HPV Outro	CONTROLO DO PROCESSO (βG)
POSITIVE (POSITIVO)	AMPLIFIED (AMPLIFICADO)	N/A [^]	N/A [^]	N/A [^]
POSITIVE (POSITIVO)	N/A [^]	AMPLIFIED (AMPLIFICADO)	N/A [^]	N/A [^]
POSITIVE (POSITIVO)	N/A [^]	N/A [^]	AMPLIFIED (AMPLIFICADO)	N/A [^]
NEGATIVE (NEGATIVO)	NOT AMPLIFIED (NÃO AMPLIFICADO)	NOT AMPLIFIED (NÃO AMPLIFICADO)	NOT AMPLIFIED (NÃO AMPLIFICADO)	AMPLIFIED (AMPLIFICADO)
IND (INDETERMINADO)	NOT AMPLIFIED (Não amplificado), System Error Detected (Erro do sistema detetado), Sample Processing Completed (Processamento de amostras concluído)			
IND/NR* (INDETERMINADO/NENHUM RESULTADO)	NOT AMPLIFIED (Não amplificado), System Error Detected (Erro do sistema detetado), Sample Processing Aborted (Processamento de amostras interrompido)			
UNR (NÃO RESOLVIDO)	NOT AMPLIFIED (NÃO AMPLIFICADO), No System Errors Noted (Nenhum erro de sistema observado)			

* O sinalizador No Result (Sem resultados) é apenas comunicado nas versões 1.8 e superiores do software do NeuMoDx System.

[^] N/A = Não aplicável

Tabela 2. Valores de limite de Ct para indicações positivas

RESULTADO	HPV16	HPV18	HPV Outro	CONTROLO DO PROCESSO (βG)
POSITIVE (POSITIVO)	33	33	30	N/A*

* N/A = Não aplicável

Controlo de qualidade

Os regulamentos locais geralmente especificam que o laboratório é responsável pelos procedimentos de controlo que monitorizam o rigor e precisão de todo o processo analítico e deve estabelecer o número, tipo e frequência dos materiais de controlo do teste, utilizando especificações verificadas de desempenho para um sistema de teste aprovado e não modificado.

Controlos (externos) definidos pelo utilizador

1. O laboratório deve selecionar e validar controlos definidos pelo utilizador apropriados e em conformidade com as diretrizes locais. Tenha em atenção que os controlos definidos pelo utilizador devem cumprir as mesmas especificações de volume mínimo que as amostras clínicas especificadas acima com base no tamanho do transportador de tubos de espécime.
2. Se estiver a processar controlos definidos pelo utilizador, colocar os controlos etiquetados num transportador de tubos de espécime e utilizar o ecrã tátil para carregar o transportador no NeuMoDx System a partir da prateleira do carregador automático. Uma vez definido, o NeuMoDx System reconhecerá os códigos de barras e iniciará o processamento dos controlos.
3. Recomenda-se que os utilizadores processem um conjunto de controlos positivos e negativos definidos pelo utilizador a cada 24 horas.
4. A comunicação de um resultado de teste positivo para uma amostra de controlo negativo definido pelo utilizador pode indicar um problema de contaminação de espécimes. Consultar o *Manual do Operador do NeuMoDx 288 Molecular System ou do NeuMoDx 96 Molecular System* para obter dicas sobre resolução de problemas.
5. A comunicação de um resultado negativo para uma amostra de controlo positivo definido pelo utilizador pode indicar um problema relacionado com reagentes ou com o NeuMoDx System. Consultar o *Manual do Operador do NeuMoDx 288 Molecular System ou do NeuMoDx 96 Molecular System* para obter dicas sobre resolução de problemas.

Controlo (interno) do processo de amostra

A β -globina (β G) serve como um controlo interno endógeno uma vez que está presente em esfregaços cervicais colhidos adequadamente. O alvo β G passa por todo o processo de extração de ácidos nucleicos/do ácido nucleico e a amplificação de PCR em tempo real com cada amostra, funcionando igualmente como verificação da qualidade da amostra. Estão incluídos os iniciadores e a sonda específicos para β G em cada uma das NeuMoDx HPV Test Strip, juntamente com os iniciadores e sondas para os vários alvos HPV, permitindo a deteção de β G em conjunto com o alvo ADN de HPV (se presente) via PCR em multiplex. A deteção da amplificação de β G permite que o software do NeuMoDx System monitorize a eficácia dos processos de colheita de espécimes, extração de ADN e da amplificação PCR.

Controlos do NeuMoDx System

O NeuMoDx System processa vários controlos internos de instrumentos da seguinte forma:

1. Antes da PCR, o NeuMoDx System efetua automaticamente uma "FILL CHECK" (Verificação de enchimento) para assegurar que a câmara de PCR está cheia de solução e contém uma quantidade adequada de sonda fluorescente.
2. O software do NeuMoDx System monitoriza continuamente os sensores e atuadores a bordo para garantir a operação segura e eficaz do sistema.
3. São implementados vários modos de recuperação de erro de fluido através da monitorização ativa das operações de aspiração e dispensa para assegurar que o sistema pode concluir o processamento de todas as amostras de forma segura e eficaz ou fornecer um código de erro adequado.
4. O NeuMoDx System está equipado com a capacidade de Rerun/Repeat (Reexecutar/repetir) automática que o utilizador final pode optar por utilizar, de forma a assegurar que um resultado INVALID (Inválido) é reprocessado automaticamente para minimizar atrasos na comunicação de resultados.

Resultados inválidos

Se um NeuMoDx HPV Assay desempenhado no NeuMoDx System falhar na produção de um resultado válido, será comunicado como Indeterminate (Indeterminado) (IND), Unresolved (Não resolvido) (UNR) ou No Result (Sem resultado) (NR) com base no tipo de erro que ocorreu.

Caso seja detetado um erro do NeuMoDx System durante o processamento da amostra, será comunicado um resultado IND (Indeterminado). Caso seja comunicado um resultado IND (Indeterminado), recomenda-se realizar um novo teste.

Será comunicado um resultado UNR (Não resolvido) se não for detetada uma amplificação válida do ADN de HPV ou β G, o que indica uma possível falha de reagentes ou a presença de inibidores. Caso seja comunicado um resultado UNR (Não resolvido), recomenda-se, como primeiro passo, realizar um novo teste. Se o novo teste falhar, pode ser utilizada uma diluição de espécime para mitigar os efeitos de qualquer inibição da amostra.

Um resultado NR (Sem resultado) será comunicado se o processamento de amostras for interrompido devido a um erro no sistema. Caso seja comunicado um resultado NR (Sem resultado), recomenda-se realizar um novo teste. Este sinalizador é apenas comunicado nas versões 1.8 e superiores do software do NeuMoDx. Em versões mais antigas do software, este erro é comunicado como IND (Indeterminado).

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Sensibilidade analítica

O limite de deteção (LdD) foi determinado utilizando um série de diluição gBlock (blocos de cadeia dupla de ADN genómico) em sequência de três vezes com a região de amplificação de cada um dos tipos de HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67, 68) e β -globina alvo. Cada série de diluição de seis membros foi preparada num fundo de 2000 ng/mL de ADN humano (exceto para a β -globina) e a concentração foi testada 45 vezes. Os resultados do estudo no qual o LdD foi determinado utilizando a análise da taxa de identificação de 95% são apresentados na *Tabela 3* abaixo.

Tabela 3. Limite de deteção (LdD) do NeuMoDx HPV Assay de 15 tipos de hrHPV e gene da β -globina

Alvo	Limite de deteção (cópias/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 -globina	74 074

Especificidade analítica

A especificidade analítica do NeuMoDx HPV Assay foi determinada em relação a ADN de genomas de HPV não alvo (*Tabela 4*) a 1×10^6 cópias/mL e comparativamente a micro-organismos vaginais potencialmente patogênicos apresentados na *Tabela 5* a 1×10^6 UFC/mL ou a 1×10^5 PFU/mL. O ensaio não apresentou qualquer reatividade cruzada com os tipos de HPV não abrangidos 6, 11, 26, 30, 34, 53, 69, 73, 82, 85 ou com os micro-organismos. Resultados "HPV Other" (HPV Outro) positivos foram observados com HPV 70, provavelmente devido a homologia de alta sequência entre os tipos 39, 68 e 70, e um estudo de titulação posterior indicou que este tipo podia ser detetado a $\geq 4,12 \times 10^6$ cópias/mL. O HPV 70 é provavelmente considerado carcinogénico com base nos estudos epidemiológicos, filogenéticos e funcionais.

Tabela 4. Tipos de HPV não abrangidos avaliam a reatividade cruzada

Genótipos de HPV não abrangidos	
HPV 6	HPV 69
HPV 11	HPV 70
HPV 26	HPV 73
HPV 30	HPV 82
HPV 34	HPV 85
HPV 53	

Tabela 5. Microrganismos avaliados para reatividade cruzada

Microrganismo		
Adenovírus*	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	Vírus 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>	Vírus do herpes simples 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	Vírus do herpes simples 2	<i>Staphylococcus faecalis</i>
<i>Corynebacterium spp.</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Staphylococcus pyogenes</i>
Citomegalovírus	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
<i>Treponema pallidum**</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	

*testado a 1×10^5 (TCID₅₀)/mL

**realizado por análise *in silico*

Reprodutibilidade analítica

A reprodutibilidade analítica do NeuMoDx HPV Assay foi avaliada utilizando o mesmo conjunto de dados que foi utilizado para o limite de estudo de deteção. As amostras foram testadas a 3X LdD em três NeuMoDx Molecular Systems diferentes, 1 sistema N288 e 2 sistemas N96, utilizando três lotes diferentes de NeuMoDx HPV Test Strips. Os dados apresentaram excelente reprodutibilidade geral, com CV máximo de 3,0%, para cada um dos genótipos testados conforme apresentado na *Tabela 6*. Além disso, este conjunto de dados foi utilizado para demonstrar a reprodutibilidade entre lotes de reagentes e sistemas conforme apresentado na *Tabela 7*.

Tabela 6. Genótipos hrHPV testados

Alvo	Concentração do alvo	cópias/mL	Taxa de identificação	CV geral
β-globina	3X o LdD	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%

Tabela 7. Reprodutibilidade entre lotes e entre sistemas

Alvo	CV de variabilidade de lote			CV de variabilidade de sistema		
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Sistema 1 (N96)	Sistema 2 (N288)	Sistema 3 (N96)
β-globina	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%

Substâncias interferentes

Foram enriquecidas amostras artificiais de PreservCyt com um baculovírus recombinante que incorpora as regiões de amplificação de HPV 16, 18, 51 e β-globina a 1000 cópias/mL e as substâncias indicadas na *Tabela 8*. Nenhum dos agentes teve um efeito inibidor significativo no desempenho do ensaio.

Tabela 8. Substâncias testadas potencialmente interferentes

	Substância	Concentração
Endógenas	Sangue total (humano)	1% (v/v)
	Leucócitos	10 ⁶ células/mL
	Mucina	1% (v/v)
Exógenas	Duche	1% (v/v)
	Creme antifúngico	1% (p/v)
	Espermicida	1% (p/v)
	Lubrificante vaginal	1% (p/v)
	Spray para a higiene feminina	1% (v/v)
	Espuma contraceptiva	1% (p/v)

Estabilidade da amostra a bordo

O controlo do baculovírus recombinante, contendo os alvos para HPV 16, 18, 51 e β -globina, foi enriquecido a aproximadamente 3x o LdD de cópias/mL em meio de colheita SurePath ou PreservCyt e processado utilizando o NeuMoDx HPV Assay. No final do processamento, todos os tubos de espécimes positivos e negativos foram deixados na mesa de trabalho do sistema durante 4, 8 e 24 horas e, em seguida, novamente testados. O resultado esperado em todos os momentos de avaliação era POSITIVE (Positivo) para todos os espécimes de citologia enriquecidos com alvo e NEGATIVE (Negativo) (para todos os alvos) nos espécimes de citologia que não foram enriquecidos com alvo. Foi observada a concordância total com o resultado esperado no momento de avaliação de 24 horas, demonstrando uma estabilidade a bordo de 24 horas para testes com o NeuMoDx HPV Assay. Os resultados são resumidos na *Tabela 9*, abaixo. As amostras em PreservCyt experienciaram uma evaporação de até 20% durante o armazenamento no sistema durante 24 horas, mas tal não produziu um impacto na detecção dos alvos no nível testado.

Tabela 9. Resumo dos dados de estabilidade da amostra a bordo

Estabilidade do espécime a bordo	Alvo	PreservCyt		SurePath	
		T ₀	24 h	T ₀	24 h
		% de concordância	% de concordância	% de concordância	% de concordância
Conjunto positivo	HPV 16	100%	100%	100%	100%
	HPV 18	100%	100%	100%	100%
	HPV Outro	100%	100%	100%	100%
	β -globina	100%	100%	100%	100%
Conjunto negativo	Negativo (apenas β -globina)	100%	100%	100%	100%

Desempenho clínico – Meio de colheita PreservCyt

A sensibilidade e a especificidade clínicas do NeuMoDx HPV Assay para neoplasia intraepitelial cervical de grau 2 ou superior (cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or higher, CIN2+) em espécimes cervicais colhidas em PreservCyt foram avaliadas através de uma análise de não inferioridade em comparação com o ensaio de referência (ou seja, GP5+/6+-PCR-EIA de HPV de alto risco) em conformidade com as diretrizes internacionais sobre os requisitos de teste de HPV para o rastreio do cancro do colo do útero.¹⁶ Com um formato de estudo de caso-contrôle, foram testadas 67 amostras de mulheres com 30 ou mais anos e com CIN2+ confirmada histologicamente (ou seja, casos; *Tabela 10*). Para a especificidade clínica, foram testadas 823 amostras de citologia à base de líquido colhidas consecutivamente da população sujeita ao rastreio, nomeadamente, mulheres com citologia normal e sem indícios de CIN2+ em 2 anos de acompanhamento (ou seja, controlos). A taxa de sucesso geral com o NeuMoDx HPV Assay foi de 99,4% (818/823), conforme apresentado na *Tabela 11*. A sensibilidade clínica do NeuMoDx HPV Assay quanto a CIN2+ foi de 92,5% (62/67; IC de 95% 83,3–96,9) e a especificidade clínica de CIN2+ foi de 95,6% (782/818; IC de 95% 92,2–97,6), sendo que ambas foram inferiores aquelas indicadas no ensaio de referência GP5+/6+-PCR-EIA ($P=0,02$ e $P<0,0001$, respetivamente).

Tabela 10. Resultados da sensibilidade clínica de amostras de mulheres com 30+ anos com CIN2+ confirmada

Teste de referência	NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	TOTAL
POS	61	2	63
NEG	1	3	4
TOTAL	62	5	67
Sensibilidade clínica do NeuMoDx HPV Assay: 92,5% (IC de 95% 83,3–96,9)			

Tabela 11. Resultados da especificidade clínica de amostras de mulheres com citologia normal e CIN2+ não confirmada

Teste de referência	NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	TOTAL
POS	28	19	47
NEG	8	763	771
TOTAL	36	782	818
Especificidade clínica do NeuMoDx HPV Assay: 95,6% (IC de 95% 92,2-97,6)			

Para mulheres com menos de 30 anos, 173 amostras de citologia à base de líquido foram testadas de mulheres que frequentavam uma clínica com consultas externas. A taxa de sucesso do NeuMoDx HPV Assay foi de 98,3% (170/173) (Tabela 12). A sensibilidade da CIN3+ do NeuMoDx HPV Assay foi de 91,1% (41/45; CI de 95% 78,6–96,6) e a especificidade da CIN3+ foi de 51,2% (64/125; CI de 95% 42,5–60,0). Os valores de sensibilidade e especificidade relativos comparativamente ao QIAScreen HPV PCR Test foram de 1,03 e 1,10 respectivamente.

Tabela 12. Desempenho do NeuMoDx HPV Assay em mulheres com menos de 30 anos estratificada pela histologia e o QIAScreen HPV PCR Test

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

Para mulheres com ASC-US (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) ou LSIL (Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion, LSIL), a sensibilidade clínica de CIN2+ foi de 91,7% (11/12; CI de 95% 58,7–98,8) e a especificidade clínica de CIN2+ foi de 75,0% (15/20; CI de 95% 52,2–89,2) (Tabela 13).

Tabela 13. Desempenho do NeuMoDx HPV Assay em mulheres com citologia de ASC-US/LSIL, estratificado pela histologia e o resultado do teste de referência

Histologia	Ensaio de referência	NeuMoDx HPV Assay		
		NEG	POS	TOTAL
<=CIN1	NEG	13	-	13
	POS	2	5	7
	TOTAL	15	5	20
CIN2	NEG	-	-	-
	POS	-	6	6
	TOTAL	-	6	6
CIN3+	NEG	1	-	1
	POS	-	5	5
	TOTAL	1	5	6
GERAL	NEG	14	-	14
	POS	2	16	18
	TOTAL	16	16	32

Desempenho clínico – Meio de colheita SurePath

A sensibilidade e especificidade clínicas do NeuMoDx HPV Assay para a detecção da CIN2+ foram determinadas utilizando 948 espécimes de esfregaços cervicais colhidos em meio de colheita SurePath, utilizando um conceito de estudo de caso-controle. A sensibilidade e especificidade relativas para a CIN2+ do NeuMoDx HPV Assay em comparação com um ensaio de referência validado clinicamente (ou seja, o HPV-Risk Assay) foram determinadas com base no método estatístico de um "teste de pontuação de não inferioridade".

A sensibilidade clínica foi determinada utilizando 106 amostras de mulheres diagnosticadas com o estado CIN2+ confirmado histologicamente (ou seja, casos). A idade média das mulheres era de 38 anos (intervalo entre 30 e 58 anos). A sensibilidade do NeuMoDx HPV Assay foi determinada como sendo de 92,5% (98/106); IC de 95%: 85,6–96,2) e igual à do HPV-Risk Assay de referência (Tabela 14). A sensibilidade relativa do NeuMoDx HPV Assay comparativamente ao HPV-Risk Assay foi de 1,00 com um valor do teste de pontuação de não inferioridade de P=0,0009.

A especificidade clínica foi determinada com base em 842 amostras colhidas em citologia à base de líquido (SurePath) da população sujeita ao rastreamento, nomeadamente, mulheres com citologia normal e sem indícios de CIN2+ em 2 anos de acompanhamento. A idade média das mulheres era de 43 anos (intervalo entre 30 e 59 anos) e 98,6% (935/948) das amostras apresentaram um teste válido. A especificidade do NeuMoDx HPV Assay foi de 93,5% (775/829; IC de 95%: 91,6–95,0) e a especificidade do HPV-Risk Assay de referência foi de 91,9% (762/829; IC de 95%: 89,9–93,6) (Tabela 15). A especificidade relativa do NeuMoDx HPV Assay comparativamente ao HPV-Risk Assay foi de 1,02 com um valor do teste de pontuação de não inferioridade de P<0,0001.

Tabela 14. Resultados da sensibilidade clínica de amostras de mulheres com CIN2+ confirmada em meio de colheita SurePath

Teste de referência	NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	TOTAL
POS	97	1	98
NEG	1	7	8
TOTAL	98	8	106

Sensibilidade clínica do NeuMoDx HPV Assay: 92,5% (IC de 95% 85,6-96,2)

Tabela 15. Resultados da especificidade clínica de amostras de mulheres com citologia normal e CIN2+ não confirmada em meio de colheita SurePath

Teste de referência	NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	TOTAL
POS	48	6	54
NEG	19	756	775
TOTAL	67	775	842

Especificidade clínica do NeuMoDx HPV Assay: 93,5% (IC de 95% 91,6-95,0)

Reprodutibilidade clínica

A reprodutibilidade intralaboratorial e a concordância interlaboratorial do teste em espécimes clínicos colhidos em PreservCyt foram avaliadas em conformidade com as diretrizes internacionais sobre os requisitos de teste de HPV para o rastreio do cancro do colo do útero.¹⁶ A reprodutibilidade intralaboratorial de espécimes cervicais ao longo do estudo foi de 96,0% (484/504; IC de 95% 94,3–97,4) com um valor de kappa (κ) de 0,90 (Tabela 16). Os resultados destes momentos de teste foram então avaliados quanto a concordância com os momentos de outro local de teste, tendo em consideração as concordâncias interlaboratoriais de 96,4% (486/504; CI de 95% 94,8–97,7) com $\kappa=0,91$ e 94,4% (476/504; CI de 95% 92,5–96,1) com $\kappa=0,86$ para o primeiro e o segundo momento de teste, respetivamente (Tabela 17).

Tabela 16. A reprodutibilidade intralaboratorial ao longo do tempo do NeuMoDx HPV Assay

Resultado do teste 1 do NeuMoDx HPV Assay	Resultado do teste 2 do NeuMoDx HPV Assay		
	NEG	POS	TOTAL
NEG	347	13	360
POS	7	137	144
TOTAL	354	150	504
Reprodutibilidade = 96,0% (CI de 95% 94,3–97,4); $\kappa=0,90$			

Tabela 17. Concordância interlaboratorial do NeuMoDx HPV Assay

Teste externo do NeuMoDx HPV Assay	NeuMoDx HPV Assay – Resultado do teste interno 1			NeuMoDx HPV Assay – Resultado do teste interno 2		
	NEG	POS	TOTAL	NEG	POS	TOTAL
NEG	355	13	368	347	21	368
POS	5	131	136	7	129	136
TOTAL	360	144	504	354	150	504
96,4% de concordância (IC de 95% 94,8–97,7); $\kappa=0,91$			94,4% de concordância (IC de 95% 92,5-96,1); $\kappa=0,86$			

REFERÊNCIAS

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.

MARCAS COMERCIAIS

NeuMoDx™ e NeuDry™ são marcas comerciais da NeuMoDx Molecular, Inc.















Hamilton® é uma marca comercial registada da Hamilton Company.

PreservCyt® é uma marca comercial registada da Hologic, Inc.

SurePath™ é uma marca comercial registada da Becton Dickinson (BD).

Todos os outros nomes de produto, marcas comerciais e marcas registadas que possam ser referidos neste documento pertencem aos seus respetivos proprietários.

SÍMBOLO

 R only	Sujeito a receita médica		Limite de temperatura
	Fabricante		Não reutilizar
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>		Contém o suficiente para <n> testes
	Representante autorizado na Comunidade Europeia		Consultar as instruções de utilização
	Número de catálogo		Cuidado
	Código de lote		Riscos biológicos
	Data de validade		Marcação CE



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

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



Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
Países Baixos



Assistência técnica/relatórios de vigilância: support@qiagen.com

Patente: www.neumodx.com/patents