

**REF Testovací proužek 617007 NeuMoDx™ HPV Test Strip**
**R only**

UPOZORNĚNÍ: Pouze pro export do USA

**IVD Pro diagnostiku *in vitro* se soustavami NeuMoDx 288 Molecular System a NeuMoDx 96 Molecular System**

 Elektronická verze je k dispozici na webových stránkách [www.qiaagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiaagen.com/neumodx-ifu)

Podrobné pokyny naleznete v návodu k obsluze soustavy NeuMoDx 288 Molecular System, výr. č. 40600108.

Podrobné pokyny naleznete v návodu k obsluze soustavy NeuMoDx 96 Molecular System, výr. č. 40600317.

### ZAMÝŠLENÉ POUŽITÍ

Analýza NeuMoDx HPV Assay, prováděná na molekulární soustavě NeuMoDx 96 Molecular System a molekulární soustavě NeuMoDx 288 Molecular System (soustava/soustavy NeuMoDx System), představuje rychlou, automatizovanou *in vitro* diagnostickou analýzu amplifikace nukleových kyselin založenou na PCR v reálném čase pro kvalitativní detekci DNA vysoce rizikových typů lidského papilomaviru (Human Papillomavirus, HPV) v cervikálních vzorcích. Test specificky identifikuje viry HPV 16 a HPV 18 a současně detekuje další vysoce rizikové typy (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 a 68) na klinicky relevantních úrovních infekce. Cervikální vzorky, které mohou být testovány pomocí analýzy NeuMoDx HPV Assay, zahrnují cervikální vzorky odebrané lékařem pomocí odběrového zařízení kartáčkového typu, konzervované v kapalném cytologickém roztoku PreservCyt® (HOLOGIC) a SurePath™ (BD). Tato analýza je zamýšlena jako primární test při screeningu žen ve věku od 21 let na riziko (pre)rakoviny děložního čípku ke stanovení potřeby doporučení ke kolposkopii nebo jiným následným zákrokům a sledováním a jako kontrolní test u žen s výsledky Pap testů s atypickými skvamózními buňkami neurčeného významu (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) nebo skvamózními intraepiteliálními lézemi nízkého stupně (Low-grade Squamous Intra-epithelial Lesion, LSIL) ke stanovení potřeby doporučení ke kolposkopii nebo jiným následným zákrokům a sledováním. Tyto informace, spolu s lékařským posouzením cytologické historie a dalších rizikových faktorů a s odbornými pokyny, mohou být použity jako vodítko k léčbě pacientek.

Tento produkt je určen k použití odbornými uživateli, jako jsou technici a laboranti, kteří jsou vyškoleni v diagnostických postupech *in vitro* a technikách molekulární biologie.

### SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ

Cervikální karcinom a jeho prekurzorové léze (cervikální intraepiteliální neoplazie (Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN)) jsou způsobeny přetrvávající infekcí vysoce rizikovým typem lidského papilomaviru (Human Papillomavirus, HPV).<sup>1-3</sup> Virus HPV patří do čeledi Papillomaviridae a jedná se o malé viry s dvouvláknovou DNA. Kruhový genom má velikost přibližně 7,9 kb. Bylo identifikováno více než 100 typů HPV, z nichž některé jsou známé jako vysoce rizikové HPV (High-Risk HPV, hrHPV), například HPV 16 a 18, jež jsou spojeny s indukci slizničních lézí, které mohou progredovat do malignity. Virový genom obsahuje rané (Early, E) a pozdní (Late, L) geny, které kódují proteiny nezbytné pro raná, respektive pozdní stádia životního cyklu viru HPV. Genové produkty E6 a E7 typů hrHPV vykazují karcinogenní vlastnosti a jsou nezbytné pro maligní transformaci hostitelské buňky.<sup>4</sup> Maligní progresse je často spojena s integrací viru do genomu hostitelské buňky.<sup>5</sup> Tato integrace vede k přerušení virového genomu v oblasti, která může sahát od E1 po otevřený čtecí rámec L1.<sup>6</sup> To může mít důsledky pro amplifikaci virové DNA v těchto oblastech zprostředkovanou PCR. Vzhledem k tomu, že na kontinuální expresi virových onkoproteinů závisí nejen iniciace, ale také udržování transformovaného fenotypu, je virová oblast E6/E7 v integrovaných virových genomech u cervikálních karcinomů trvale zachována.<sup>6,7,8</sup>

Cervikální karcinom je vzácnou komplikací infekce virem HPV; riziko infekce hrHPV v průběhu celého života se odhaduje na přibližně 80 % a velká většina infekcí je potlačena imunitním systémem hostitele a nevyvolává léze.<sup>9</sup> Po potlačení infekce HPV léze CIN obvykle ustupují.<sup>10</sup>

Testování na DNA viru HPV nabízí ve srovnání s cytomorfológickou analýzou (tj. Pap stěr) v cervikálních vzorcích při primárním screeningu u žen ve věku od 30 let a v triádě žen ve věku od 21 let s cervikální cytologií ASC-US nebo LSIL (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) lepší ochranu před cervikálním karcinomem a jeho prekurzorovými lézemi CIN.<sup>11-15</sup> Primární cervikální screening na bázi HPV je zaveden v několika zemích po celém světě a byly publikovány mezinárodní pokyny pro požadavky na testování DNA viru HPV pro primární screening cervikálního karcinomu.<sup>16</sup> Analýza NeuMoDx HPV Assay se zaměřuje na konzervovanou oblast v genu E7 genomu viru HPV, čímž překonává potenciální falešně negativní výsledky po virové integraci do hostitelského genomu.

### PRINCIPY POSTUPU

Analýza NeuMoDx HPV Assay kombinuje automatizovanou extrakci DNA a amplifikaci/detekci pomocí PCR v reálném čase. Cervikální vzorky jsou odebrány do kapalného cytologického roztoku a poté přeneseny do kompatibilní sekundární zkumavky se vzorkem, ta je označena čárovým kódem a umístěna do soustavy NeuMoDx System. Soustava NeuMoDx System automaticky nasaje alikvotní podíl vzorku, smíchá jej s pufrem NeuMoDx Lysis Buffer 2 a látkami obsaženými na extrakční destičce NeuMoDx Extraction Plate a zahájí zpracování. Soustava NeuMoDx System automatizuje a integruje extrakci DNA a zkoncentrování, přípravu reagií a amplifikaci nukleové kyseliny / detekci cílových sekvencí nukleových kyselin pomocí PCR v reálném čase. β-globinová (βG) DNA, která je přítomna v každém správně odebraném vzorku, slouží jako endogenní kontrola zpracování vzorku a pomáhá monitorovat přítomnost inhibičních látek a selhání soustavy, procesu či reagií. Jakmile jsou vzorek a nezbytné spotřební materiály vloženy do soustavy NeuMoDx System, není nutný žádný zásah obsluhy.

Soustava NeuMoDx System automaticky provádí lýzu, extrakci DNA a odstranění inhibitorů. Uvolněné nukleové kyseliny jsou zachyceny paramagnetickými částicemi. Částice s navázanou nukleovou kyselinou jsou vloženy do kazety NeuMoDx Cartridge, kde jsou nenačnané prvky vymyty promývací reagií NeuMoDx Wash Reagent. Navázaná DNA se potom eluuje za použití uvolňovací reagií NeuMoDx Release Reagent. Soustava NeuMoDx System používá eluovanou DNA k rehydrataci proprietárních amplifikačních reagií NeuDry™, které obsahují všechny komponenty nezbytné pro 40 cyklů amplifikace

15 cílových HPV (jsou-li přítomny), jakož i cílového  $\beta$ -globinu. Tímto je umožněna simultánní amplifikace a detekce jak cílových, tak kontrolních sekvencí DNA. Po rekonstituci vysušených reagentů PCR soustava NeuMoDx System nadávkuje připravenou PCR-ready směs do jedné PCR komory (na každý vzorek) kazety NeuMoDx Cartridge. K amplifikaci a detekci kontrolních a cílových sekvencí (pokud jsou přítomné) dochází v PCR komoře. Kazeta NeuMoDx Cartridge je konstruována tak, aby po PCR obsahovala amplikon, čímž se prakticky eliminuje riziko kontaminace po amplifikaci.

Amplifikované cíle jsou detekovány v reálném čase pomocí chemizmu hydrolyzační sondy (běžně označovaný jako chemizmus TaqMan®) za použití fluorogenních oligonukleotidových molekul sondy, specifických pro amplikony jejich příslušných cílů. Sonda TaqMan sestává z fluoroforu, kovalentně připojeného k 5' konci oligonukleotidové sondy, a ze zhášedla na 3' konci. Zatímco sonda je intaktní, fluorofor a zhášedlo jsou v blízkosti, čímž molekula zhášedla potlačuje fluorescenci emitovanou fluoroforem přes Försterův rezonanční přenos energie (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Sondy TaqMan jsou určeny k reasociaci DNA v úseku amplifikovaném specifickou sadou primerů. Jak polymeráza Taq DNA prodlužuje primer a syntetizuje nové vlákno, 5' až 3' exonukleázová aktivita polymerázy Taq DNA degraduje sondu, která reasociovala na templát. Degradaci sondy se uvolňuje fluorofor a narušuje její blízkost ke zhášedlu, takže účinek zhášení je v důsledku FRET překonán a detekce fluoroforu je možná. Výsledný fluorescenční signál, detekovaný PCR v termocyklu soustavy NeuMoDx System, je přímo úměrný uvolněnému fluoroforu a může být korelovan s množstvím přítomného cíle.

K detekci viru HPV 16 (470/510 nm), HPV 18 (625/660 nm) a zbývajících, klinicky významných vysoce rizikových (High Risk, HR) typů („HPV Other“ (Ostatní HPV); 530/555 nm) je použita sonda TaqMan značená fluoroforem na 5' konci a tmavým zhášedlem na 3' konci. K detekci  $\beta$ -globinu je sonda TaqMan označena alternativním fluorescenčním barvivem (585/610 nm) na 5' konci a tmavým zhášedlem na 3' konci. Software soustavy NeuMoDx System monitoruje fluorescenční signál vydávaný sondami TaqMan na konci každého amplifikačního cyklu. Když je amplifikace hotova, software soustavy NeuMoDx System analyzuje a podá zprávu o výsledku (POSITIVE (POZITIVNÍ) / NEGATIVE (NEGATIVNÍ) / INDETERMINATE (NEURČITÝ) / UNRESOLVED (NEROZLIŠENO) / NO RESULT (BEZ VÝSLEDKU)).

### REAGENCIE / SPOTŘEBNÍ MATERIÁL

#### Dodaný materiál

REF.	Obsah	Počet jednotek v balení	Počet testů na jednotku	Počet testů v balení
617007	Testovací proužek NeuMoDx HPV Test Strip <i>Suché reagenty PCR obsahující sondu TaqMan® a primery specifické pro HPV a <math>\beta</math>G</i>	6	16	96

#### Požadované, ale nedodávané materiály (k dispozici samostatně od společnosti NeuMoDx)

REF.	Obsah
100200	Extrakční destička NeuMoDx Extraction Plate <i>Suché paramagnetické částice, lytický enzym a kontrola <math>\beta</math>-globinu</i>
400500	Pufr NeuMoDx Lysis Buffer 2
401600	Pufr NeuMoDx Viral Lysis Buffer*
400100	Promývací reagentie NeuMoDx Wash Reagent
400200	Uvolňovací reagentie NeuMoDx Release Reagent
100100	Zásobník NeuMoDx Cartridge
235903	Hroty Hamilton® CO-RE / CO-RE II (300 $\mu$ l) s filtry
235905	Hroty Hamilton CO-RE / CO-RE II (1 000 $\mu$ l) s filtry

\* Požadováno pro zpracování předem upravených vzorků SurePath

#### Potřebné přístrojové vybavení

Molekulární soustava NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] nebo NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200]

### VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Testovací proužek NeuMoDx HPV Test Strip je určen pouze pro diagnostiku *in vitro* se soustavami NeuMoDx System.
- Spotřební materiál nebo reagentie po uvedené době expirace nepoužívejte.
- Nepoužívejte žádné reagentie, pokud je bezpečnostní těsnění rozbito nebo je při dodání poškozen obal.
- Spotřební materiál nebo reagentie nepoužívejte, pokud je ochranný váček při dodání otevřený nebo rozbitý.
- Minimální objem vzorku sekundárních alikvotních podílů závisí na velikosti zkumavky / stojanu na zkumavky se vzorkem tak, jak je definováno níže. Objem menší, než je specifikované minimum, může vést k chybě „Quantity Not Sufficient“ (Nedostatečné množství).

- Použití vzorků skladovaných při nesprávných teplotách nebo po uplynutí specifikovaných dob skladování může vést k neplatným nebo chybným výsledkům.
- Na molekulárních soustavách NeuMoDx Molecular System lze použít pouze vzorky SurePath předběžně upravené s virovým lýzovým pufrem. Čisté vzorky mohou produkovat neplatné nebo suboptimální výsledky.
- Ve validačních studiích provedených k vyhodnocení stability vzorku v soustavě kvůli vysoké těkavosti odběrného média PreservCyt bylo pozorováno až 20% odpařování vzorku. Neočekává se, že by to negativně ovlivnilo výsledky vzorků, ale mělo by to být bráno v úvahu při přípravě vzorků pro odložené zpracování. U předem ošetřených vzorků SurePath významné odpařování nebylo pozorováno.
- U všech reagiencí a spotřebního materiálu zabraňte mikrobiální a deoxyribonukleázové (DNázové) kontaminaci. Při použití sekundárních zkumavek se doporučuje používat sterilní jednorázové přenosové pipety bez DNázy. Na každý vzorek použijte novou pipetu.
- Abyste předešli kontaminaci, s kazetou NeuMoDx Cartridge po amplifikaci nemanipulujte ani ji nerozebírejte. Za žádných okolností nevyjímejte kazety NeuMoDx Cartridge z nádoby na biologicky nebezpečný odpad (NeuMoDx 288 Molecular System) nebo z koše na nebezpečný biologický odpad (NeuMoDx 96 Molecular System). Zásobník NeuMoDx Cartridge je zkonstruován tak, aby kontaminaci zabránil.
- V případě, že laboratoř provádí také testy PCR s otevřenými zkumavkami, musí být zajištěno, aby testovací proužek NeuMoDx HPV Test Strip, doplňkový spotřební materiál a reagentie nezbytné k testování, ochranné osobní prostředky, jako například rukavice a laboratorní pláště, a soustava NeuMoDx System nebyly kontaminovány.
- Při manipulaci s reagentiemi a spotřebním materiálem NeuMoDx byste měli nosit čisté nitrilové rukavice bez obsahu pudru. Je třeba dávat pozor, abyste se nedotýkali horního povrchu zásobníku NeuMoDx Cartridge, fóliového těsnění povrchu testovacího proužku NeuMoDx HPV Test Strip a extrakční destičky NeuMoDx Extraction Plate ani horního povrchu lýzového pufru NeuMoDx Lysis Buffer 2; při manipulaci se spotřebním materiálem a reagentiemi byste se měli dotýkat pouze bočních stran.
- Pro každou reagentii jsou, v příslušných případech, poskytnuty bezpečnostní listy (BL), které jsou k dispozici na internetové stránce [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu).
- Po provedení testu si důkladně umyjte ruce.
- Nepipetujte ústy. Nekuřte, nepijte ani nejzte v oblastech, kde se manipuluje se vzorky nebo reagentiemi.
- Se vzorky vždy zacházejte tak, jako by byly infekční, a v souladu s bezpečnými laboratorními postupy, například těmi popsány v publikaci *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>17</sup> a v dokumentu M29-A4 institutu CLSI.<sup>18</sup>
- Nepoužité reagentie a odpad likvidujte podle státních, federálních, oblastních a místních předpisů.
- Nepoužívejte opakovaně.

### UCHOVÁVÁNÍ, MANIPULACE A STABILITA PRODUKTU

- Testovací proužky NeuMoDx HPV Test Strip jsou stabilní v primárním obalu po dobu expirace, která je uvedena na štítku produktu, při uchovávání při teplotě mezi 15–23 °C.
- Nevkládejte žádný produkt testu, který byl již dříve vložen do jiné soustavy NeuMoDx System.
- Testovací proužek NeuMoDx HPV Test Strip může po vložení zůstat v přístroji soustavy NeuMoDx System po dobu 14 dnů. Zbývající životnost vložených testovacích proužků je sledována pomocí softwaru a hlášena uživateli v reálném čase. Soustava vyvezve k vyjmutí testovacího proužku, který byl používán po uplynutí povolené doby.

### ODBĚR VZORKŮ, ZACHÁZENÍ SE VZORKY, JEJICH SKLADOVÁNÍ A PŘEPRAVA

1. Analýza NeuMoDx HPV Assay je zamýšlena k použití se vzorky získanými z cervikálních odběrů. Ověřeným odběrným médiem pro cervikální vzorky je PreservCyt a SurePath. Při přípravě a skladování postupujte podle pokynů výrobce zařízení pro odběr vzorků.
2. Vzorky SurePath musejí být před použitím předem ošetřeny podle konkrétních, níže uvedených pokynů.
3. **Aby byl zajištěn správný výkon soustavy, chlazené vzorky by měly být před zpracováním temperovány na pokojovou teplotu po dobu nejméně 30 minut.**
4. Připravené cervikální vzorky mohou před zpracováním zůstat v soustavě NeuMoDx System po dobu až 24 hodin. Pokud je třeba delší doby skladování, doporučujeme vzorky skladovat následujícím způsobem:
 

Cervikální vzorky v médiu **PreservCyt**:

  - a. Až 6 týdnů po odběru vzorků při skladování při teplotě 15–25 °C
  - b. Až 3 měsíce po odběru vzorků při skladování při teplotě 2–8 °C
  - c. Až 8 let při skladování při teplotě –80 °C. Pokud jsou vzorky zmrazené, nechte je úplně rozmrazit při pokojové teplotě (15–30 °C) a promícháním a vířením vytvořte homogenní vzorek.

Cervikální vzorky v médiu **SurePath**:

  - a. Až 30 dní po odběru vzorků při skladování při teplotě 2–30 °C
  - b. Až 180 dní po odběru vzorků při skladování při teplotě 2–8 °C
  - c. Až 180 dní při skladování při teplotě –20 °C. Pokud jsou vzorky zmrazené, nechte je úplně rozmrazit při pokojové teplotě (15–30 °C) a promícháním a vířením vytvořte homogenní vzorek.
5. Pokud jsou vzorky přepravovány, měly by být zabaleny a označeny v souladu s platnými předpisy země a/nebo mezinárodními předpisy.
6. Zřetelně vzorky označte a uveďte, že se jedná o vzorky k testování HPV.

### NÁVOD K POUŽITÍ

#### Příprava testu – PRESERVICYT

1. Na zkumavku se vzorkem, kompatibilní se soustavou NeuMoDx System, nalepte štítek s čárovým kódem na vzorky.
2. Zkumavku označenou čárovým kódem vložte do stojanu na zkumavky se vzorkem a před vložením do soustavy NeuMoDx System se ujistěte, že je sejmuto víčko.
3. Rozdělte vzorek podle níže definovaných objemů pro vzorky **PreservCyt**:
  - Stojan na zkumavky se vzorkem (32 zkumavek): průměr 11–14 mm a výška 60–120 mm; minimální plnicí objem = 400 µl
  - Stojan na zkumavky se vzorkem (24 zkumavek): průměr 14,5–18 mm a výška 60–120 mm; minimální plnicí objem = 850 µl
  - Stojan na zkumavky se vzorkem o malém objemu (32 zkumavek): 1,5 ml mikrocentrifugační zkumavka s kónickým dnem; minimální plnicí objem = 250 µl

#### Příprava testu – SUREPATH

1. Vzorek SurePath předběžně ošetřete s objemem 1 : 1 pufru NeuMoDx Viral Lysis Buffer a důkladně promíchejte. Použijte vhodný objem k dosažení minimálního objemu vzorku, jak je definováno níže.
2. Inkubujte po dobu 20 minut při teplotě 90 °C a poté, před zpracováním, pokračujte vytemperováním na pokojovou teplotu.
3. Na zkumavku se vzorkem, kompatibilní se soustavou NeuMoDx System, nalepte štítek s čárovým kódem na vzorky.
4. Zkumavku označenou čárovým kódem vložte do stojanu na zkumavky se vzorkem a před vložením do soustavy NeuMoDx System se ujistěte, že je sejmuto víčko.
5. Rozdělte vzorek podle níže definovaných objemů pro vzorky **SurePath**:
  - Stojan na zkumavky se vzorkem (32 zkumavek): průměr 11–14 mm a výška 60–120 mm; minimální plnicí objem = 450 µl
  - Stojan na zkumavky se vzorkem (24 zkumavek): průměr 14,5–18 mm a výška 60–120 mm; minimální plnicí objem = 800 µl
  - Stojan na zkumavky se vzorkem o malém objemu (32 zkumavek): 1,5ml mikrocentrifugační zkumavka s kónickým dnem; minimální plnicí objem = 300 µl

#### Provoz soustavy NeuMoDx System

*Podrobné pokyny jsou uvedeny v návodech k obsluze molekulárních soustav NeuMoDx 288 Molecular System a NeuMoDx 96 Molecular System (výr. č. 40600108 a 40600317).*

1. Podle požadovaného typu vzorku načtěte do soustavy NeuMoDx System objednávku testu.
  - Vzorky PreservCyt jsou testovány definováním vzorku jako „Cytology“ (Cytologie).
  - Předem upravené vzorky SurePath jsou testovány definováním vzorku jako „UserSpecified1“.

Pokud to není v objednávce testu definováno, použije se jako výchozí typ vzorek PreservCyt.
2. Osadte jeden nebo více stojanů na testovací proužky soustavy NeuMoDx System testovacím proužkem (testovacími proužky) NeuMoDx HPV Test Strip a k vložení stojanu (stojanů) na testovací proužky do soustavy NeuMoDx System použijte dotykovou obrazovku.
3. Pokud vás software soustavy NeuMoDx System vyzve, přidejte potřebné spotřební materiály ke stojanům na spotřební materiál soustavy NeuMoDx System nezbytný spotřební materiál a pomocí dotykové obrazovky vložte stojany do soustavy NeuMoDx System.
4. Pokud vás software soustavy NeuMoDx System vyzve, vyměňte podle potřeby promývací reagenty NeuMoDx Wash Reagent, uvolňovací reagenty NeuMoDx Release Reagent, vyprázdněte odpadní reagenty z plnění, nádobu na biologicky nebezpečný odpad (pouze molekulární soustava NeuMoDx 288 Molecular System), odpadní koš na hroty (pouze molekulární soustava NeuMoDx 96 Molecular System) nebo koš na nebezpečný biologický odpad (pouze molekulární soustava NeuMoDx 96 Molecular System).
5. Zkumavku (zkumavky) se vzorkem vložte do příslušného stojanu na zkumavky se vzorky a ujistěte se, že jsou ve všech zkumavek sejmuta víčka.
6. Stojan (stojany) na zkumavky se vzorky umístěte na přihrádku automatického podavače a k vložení stojanu (stojanů) do soustavy NeuMoDx System použijte dotykovou obrazovku. Tím se zahájí zpracování vložených vzorků pro identifikované testy, pokud je v soustavě přítomna platná objednávka testů.

### OMEZENÍ

1. Testovací proužek NeuMoDx HPV Test Strip lze použít pouze na soustavách NeuMoDx System.
2. Funkce testovacího proužku NeuMoDx HPV Test Strip byla stanovena pro použití se vzorky získanými z cervikálních vzorků (výtěrů) do média PreservCyt, SurePath anebo ekvivalentního cytologického média. Použití testovacího proužku NeuMoDx HPV Test Strip nebylo u jiných zdrojů posuzováno a výkonová charakteristika není pro jiné typy vzorků nebo odběrová média známá.
3. Na molekulárních soustavách NeuMoDx Molecular System lze použít pouze vzorky SurePath předběžně upravené s virovým lýzovým pufrem. Čisté vzorky mohou produkovat neplatné nebo suboptimální výsledky.
4. Vzhledem k tomu, že detekce viru HPV závisí na množství tkáně přítomné ve vzorku, závisí spolehlivost výsledků na správném odběru vzorků, zacházení s nimi a jejich skladování.

- K chybným výsledkům testů může dojít kvůli nesprávnému odběru vzorků, nevhodné manipulaci s nimi, jejich nevhodnému skladování, technické chybě nebo záměně zkumavky se vzorkem.  
Kromě toho by se mohly objevit falešně negativní výsledky kvůli tomu, že množství virových částic ve vzorku je pod mezí detekce analýzy NeuMoDx HPV Assay.
- Obsluha soustavy NeuMoDx System je omezena pouze na personál vyškolený v používání soustavy NeuMoDx System.
- Pokud se ani cílový HPV, ani cílový  $\beta$ -globin neamplifikují, bude ohlášen neplatný výsledek (Indeterminate (Neurčitý), No Result (Bez výsledku) nebo Unresolved (Nerozlišeno)) a test by měl být zopakován.
- Positivní výsledek nemusí nutně znamenat přítomnost životaschopných virů HPV. Avšak pozitivní výsledek je pro přítomnost DNA viru HPV presumptivní.
- Delece nebo mutace v konzervovaných oblastech zacílených analýzou NeuMoDx HPV Assay mohou ovlivnit detekci nebo by mohly vést k chybnému výsledku.
- Výsledky analýzy NeuMoDx HPV Assay by měly být použity jako doplněk klinických pozorování a dalších informací, které má lékař k dispozici.
- Aby nedošlo ke kontaminaci, doporučujeme správnou laboratorní praxi, včetně výměny rukavic mezi manipulacemi s patientskými vzorky.

### ZPRACOVÁNÍ VÝSLEDKŮ

Dostupné výsledky lze zobrazit na kartě „Results“ (Výsledky) v okně Results (Výsledky) na dotykové obrazovce soustavy NeuMoDx System, případně je lze odtud vytisknout. Výsledky analýzy NeuMoDx HPV Assay automaticky generuje software soustavy NeuMoDx System používající algoritmus rozhodování a parametry zpracování výsledků popsané v souboru definic analýzy NeuMoDx HPV (HPV Assay Definition File; HPV ADF). Výsledek analýzy NeuMoDx HPV Assay může být ohlášen jako Negative (Negativní), Positive (Pozitivní), Indeterminate (Neurčitý, IND), No Result (Bez výsledku, NR) nebo Unresolved (Nerozlišeno, UNR), a to podle stavu amplifikace cílů a kontroly zpracování vzorků. Výsledky jsou uváděny na základě rozhodovacího algoritmu ADF, shrnutého v *tabulce 1* uvedené níže.

Práhové hodnoty Ct pro jednotlivé cíle byly stanoveny a jsou uvedeny v *tabulce 2* níže tak, aby byly v souladu s klinickým významem analýzy. Mohou nastat scénáře, kdy je pozorována křivka amplifikace cíle, ale je ohlášen výsledek Negative (Negativní). Toto ohlášení je v souladu s kritérii zpracování výsledků a mezními hodnotami validovanými společností NeuMoDx.

Výsledky ohlášené testem NeuMoDx HPV Test musí lékař vyhodnocovat v kontextu ostatních nálezů.

**Tabulka 1.** Shrnutí rozhodovacího algoritmu pro analýzu HPV Assay

VÝSLEDEK	HPV16	HPV18	Ostatní HPV	KONTROLA ZPRACOVÁNÍ ( $\beta$ G)
<b>POSITIVE (POZITIVNÍ)</b>	AMPLIFIED (AMPLIFIKOVÁNO)	N/A <sup>^</sup> (-)	N/A <sup>^</sup> (-)	N/A <sup>^</sup> (-)
<b>POSITIVE (POZITIVNÍ)</b>	N/A <sup>^</sup> (-)	AMPLIFIED (AMPLIFIKOVÁNO)	N/A <sup>^</sup> (-)	N/A <sup>^</sup> (-)
<b>POSITIVE (POZITIVNÍ)</b>	N/A <sup>^</sup> (-)	N/A <sup>^</sup> (-)	AMPLIFIED (AMPLIFIKOVÁNO)	N/A <sup>^</sup> (-)
<b>NEGATIVE (NEGATIVNÍ)</b>	NOT AMPLIFIED (NENÍ AMPLIFIKOVÁNO)	NOT AMPLIFIED (NENÍ AMPLIFIKOVÁNO)	NOT AMPLIFIED (NENÍ AMPLIFIKOVÁNO)	AMPLIFIED (AMPLIFIKOVÁNO)
<b>IND (NEURČITÝ)</b>	NOT AMPLIFIED, System Error Detected, Sample Processing Completed (Není amplifikováno, Byla zjištěna chyba soustavy, Zpracování vzorků dokončeno)			
<b>IND/NR* (NEURČITÝ / BEZ VÝSLEDKU)</b>	NOT AMPLIFIED, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Není amplifikováno, Byla zjištěna chyba soustavy, Zpracování vzorků zrušeno)			
<b>UNR (NEROZLIŠENO)</b>	NOT AMPLIFIED, No System Errors Noted (NENÍ AMPLIFIKOVÁNO, Žádné systémové chyby nebyly zaznamenány)			

\* Příznak No Result (Bez výsledku) je hlášen pouze u softwaru soustavy NeuMoDx System verze 1.8 a vyšší.

<sup>^</sup> N/A = nevztahuje se

**Tabulka 2.** Mezní hodnoty Ct pro pozitivní výsledky

VÝSLEDEK	HPV16	HPV18	Ostatní HPV	KONTROLA ZPRACOVÁNÍ ( $\beta$ G)
<b>POSITIVE (POZITIVNÍ)</b>	33	33	30	N/A*

\* N/A = nevztahuje se

### Kontrola kvality

Místní předpisy obvykle stanoví, že laboratoř je odpovědná za kontrolní postupy, které monitorují přesnost a preciznost celého analytického procesu, a musí stanovit počet, typ a četnost testů kontrolních materiálů pomocí ověřených specifikací výkonu pro nemodifikovaný a schválený testovací systém.

### Uživatелеm definované (externí) kontroly

1. Laboratoř musí v souladu s místními směrnici vybrat a validovat vhodné, uživatelem definované kontroly. Mějte na paměti, že uživatelem definované kontroly musejí splňovat stejné specifikace minimálního objemu jako klinické vzorky uvedené výše dle velikosti stojanu na zkumavky se vzorky.
2. Při zpracovávání materiálu uživatelem definované kontroly umístěte označené kontroly do stojanu na zkumavky se vzorkem a k vložení stojanu do soustavy NeuMoDx System z přihrádky automatického podavače použijte dotykovou obrazovku. Soustava NeuMoDx System po nadefinování rozpozná čárové kódy a spustí zpracování kontrol.
3. Doporučuje se zpracovat jednu sadu pozitivních a negativních, uživatelem definovaných kontrol každých 24 hodin.
4. Pozitivní výsledek testu vykázaný pro vzorek negativní, uživatelem definované kontroly může indikovat problém s kontaminací vzorku. Tipy pro řešení problémů naleznete v *návodu k obsluze molekulárních soustav NeuMoDx 288 Molecular System nebo NeuMoDx 96 Molecular System*.
5. Negativní výsledek u vzorku pozitivní, uživatelem definované kontroly může naznačovat problém související s reagentii nebo soustavou NeuMoDx System. Tipy pro řešení problémů naleznete v *návodu k obsluze molekulárních soustav NeuMoDx 288 Molecular System nebo NeuMoDx 96 Molecular System*.

### Kontroly (interní) zpracování vzorků

Jako endogenní interní kontrola slouží  $\beta$ -globin ( $\beta$ G), protože je přítomen ve správně odebraných cervikálních stěrech. Cílový  $\beta$ G prochází celým procesem extrakce nukleových kyselin a amplifikace s PCR v reálném čase s každým vzorkem a také funguje jako kontrola kvality vzorku. Každý testovací proužek NeuMoDx HPV Test Strip obsahuje primery a sondu specifické pro  $\beta$ G spolu s primery a sondami pro několik cílových HPV, které umožňují detekci  $\beta$ G spolu s cílovou DNA viru HPV (pokud je přítomen) prostřednictvím multiplexní PCR. Detekce amplifikace  $\beta$ G umožňuje softwaru soustavy NeuMoDx System sledovat účinnost odběru vzorků, extrakce DNA a procesy amplifikace pomocí PCR.

### Kontroly soustav NeuMoDx System

Soustavy NeuMoDx System provádějí různé interní kontroly přístroje, a to následovně:

1. Před PCR soustava NeuMoDx System automaticky provede kontrolu „FILL CHECK“ (Kontrola plnění), aby se zajistilo, že je PCR komora naplněna roztokem a obsahuje dostatečné množství fluorescenční sondy.
2. Software soustavy NeuMoDx System nepřetržitě monitoruje snímače a regulátory v přístroji, aby byl zajištěn bezpečný a efektivní provoz soustavy.
3. Aktivní monitorování sacích a dávkovacích operací zavádí několik režimů zotavení z fluidikových chyb, aby se zajistilo, že soustava může bezpečným a efektivním způsobem dokončit zpracování všech vzorků, případně uvést vhodný kód chyby.
4. Soustava NeuMoDx System je opatřena automatickou funkcí Rerun (Nová analýza) / Repeat (Opakovat), kterou si může koncový uživatel zvolit k zajištění, že výsledek INVALID (NEPLATNÝ) bude automaticky znovu zpracován, a tak se minimalizovaly prodlevy v hlášení výsledků.

### Neplatné výsledky

Pokud se analýze NeuMoDx HPV Assay prováděné na soustavě NeuMoDx System nepodaří vyprodukovat platný výsledek, bude oznámen buď jako Indeterminate (Neurčitý (IND)), Unresolved (Nerozlišeno (UNR)), nebo No Result (Bez výsledku (NR)) na základě typu chyby, ke které došlo.

Výsledek IND bude ohlášen tehdy, pokud je během zpracování vzorků detekována chyba soustavy NeuMoDx System. V případě ohlášení výsledku IND doporučujeme test zopakovat.

Pokud nebude detekována žádná validní amplifikace DNA viru HPV nebo  $\beta$ G, bude oznámen výsledek UNR (nevyřešený), který ukazuje na možné selhání reagentie nebo na přítomnost inhibitorů. V případě ohlášení výsledku UNR, doporučuje se jako první krok opakování testu. Pokud opakovaný test není úspěšný, lze použít ředění vzorku pro snížení účinků jakékoli inhibice vzorku.

Výsledek NR bude oznámen, pokud je zpracování vzorku přerušeno v důsledku chyby soustavy. V případě ohlášení výsledku NR doporučujeme test zopakovat. Tento příznak je hlášen pouze u softwaru soustavy NeuMoDx verze 1.8 a vyšší. U nižších verzí softwaru je tato chyba hlášena jako IND.



### VÝKONOVÁ CHARAKTERISTIKA

#### Analytická citlivost

Mez detekce (Limit of Detection, LoD) byla stanovena pomocí sériové řady trojnásobného ředění gBlock (dvouvláknové bloky genomické DNA) obsahující oblast amplikonu z jednotlivých cílených typů HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67, 68) a  $\beta$ -globinu. Každá šestičlenná řada ředění byla připravena na pozadí 2 000 ng/ml lidské DNA (s výjimkou  $\beta$ -globinu) a koncentrace byla testována 45krát. Výsledky studie, ve které byla LoD stanovena s použitím analýzy 95% míry shody, jsou uvedeny v *tabulce 3* níže.

**Tabulka 3.** Mez detekce (Limit of Detection, LoD) pro analýzu NeuMoDx HPV Assay 15 hrHPV typů a genu  $\beta$ -globinu

Cíl	Mez detekce (kopie/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
$\beta$ -globin	74 074

#### Analytická specifita

Analytická specifita analýzy NeuMoDx HPV Assay byla stanovena vůči DNA necílených genomů HPV (*Tabulka 4*) při koncentraci  $1 \times 10^6$  kopií/ml a vůči potenciálně patogenním vaginálním mikroorganismům, uvedeným v *Tabulce 5* při koncentraci  $1 \times 10^6$  KTJ/ml nebo  $1 \times 10^5$  PTJ/ml. Analýza nevykázala zkříženou reaktivitu s necílenými typy HPV 6, 11, 26, 30, 34, 53, 69, 73, 82, 85 ani s mikroorganismy. Pozitivní výsledky pro „HPV Other“ (Ostatní HPV) byly pozorovány u HPV 70, pravděpodobně v důsledku vysoké sekvenční homologie mezi typy 39, 68, a 70, a následná studie titrace ukázala, že tento typ by mohl být detekován při koncentraci  $\geq 4,12 \times 10^6$  kopií/ml. HPV 70 je na základě epidemiologických, fylogenetických a funkčních studií považován za pravděpodobně karcinogenní.

**Tabulka 4.** Necílené typy HPV hodnocené na zkříženou reaktivitu

Necílené genotypy HPV	
HPV 6	HPV 69
HPV 11	HPV 70
HPV 26	HPV 73
HPV 30	HPV 82
HPV 34	HPV 85
HPV 53	

**Tabulka 5.** Mikroorganismy hodnocené na zkříženou reaktivitu

Mikroorganismus		
Adenovirus*	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	Virus Epstein-Barr	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus agalactiae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Fusobacterium spp.</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	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>
Cytomegalovirus	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
<i>Treponema pallidum**</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	

\* testováno při koncentraci  $1 \times 10^5$  (TCID<sub>50</sub>)/ml

\*\* provedeno analýzou *in silico*

### Analytická reprodukovatelnost

Analytická reprodukovatelnost analýzy NeuMoDx HPV Assay byla posuzována pomocí stejného souboru dat, jaký byl použit pro stanovení meze detekce. Vzorky byly testovány při koncentraci 3x LoD na 3 různých molekulárních soustavách NeuMoDx Molecular System, 1 soustava N288 a 2 soustavy N96 za použití 3 různých šarží testovacích proužků NeuMoDx HPV Test Strip. Data ukázala celkově vynikající reprodukovatelnost, s maximálním CV 3,0 % pro každý z testovaných genotypů, jak je uvedeno v *Tabulce 6*. Kromě toho byl tento soubor dat použit k prokázání reprodukovatelnosti mezi šaržemi reagentů a soustav, jak je uvedeno v *Tabulce 7*.

**Tabulka 6.** Testované genotypy hrHPV

Cíl	Cílová koncentrace	kopie/ml	Míra shody	Celková CV
β-globin	3x LoD	222 222	100 % (45/45)	1,8%
HPV 16		24 691	100 % (44/44)	1,3%
HPV 18		8230	100 % (45/45)	1,3%
HPV 31		74 074	100 % (45/45)	1,3%
HPV 33		222 222	100 % (45/45)	1,6%
HPV 35		222 222	100 % (45/45)	0,8%
HPV 39		222 222	100 % (45/45)	1,4%
HPV 45		222 222	100 % (45/45)	1,5%
HPV 51		222 222	100 % (45/45)	1,8%
HPV 52		666 667	97,8 % (44/45)	3,0%
HPV 56		222 222	100 % (45/45)	1,3%
HPV 58		666 667	100 % (44/44)	2,4%
HPV 59		666 667	100 % (45/45)	2,5%
HPV 66		222 222	100 % (45/45)	1,8%
HPV 67		222 222	100 % (45/45)	1,4%
HPV 68		2 000 000	100 % (45/45)	2,9%

**Tabulka 7.** Reprodukovatelnost mezi šaržemi a soustavami

Cíl	Variační koeficient CV pro šarže			Variační koeficient CV pro soustavy		
	Šarže 1	Šarže 2	Šarže 3	Soustava 1 (N96)	Soustava 2 (N288)	Soustava 3 (N96)
β-globin	1,5%	2,4%	1,0%	1,7%	2,4%	1,0%
HPV 16	0,9%	1,1%	1,6%	1,8%	1,0%	0,9%
HPV 18	1,2%	1,6%	0,9%	1,1%	1,0%	1,5%
HPV 31	1,3%	1,5%	1,1%	1,1%	1,2%	1,1%
HPV 33	2,1%	1,4%	1,2%	0,9%	2,5%	0,9%
HPV 35	0,7%	0,7%	0,9%	0,9%	0,7%	0,8%
HPV 39	1,6%	1,6%	0,8%	1,1%	1,9%	0,9%
HPV 45	1,5%	1,4%	1,7%	1,4%	1,6%	1,1%
HPV 51	2,1%	1,2%	1,9%	1,1%	2,3%	1,4%
HPV 52	2,2%	4,0%	2,5%	1,5%	3,9%	1,6%
HPV 56	1,4%	1,5%	1,1%	0,6%	1,5%	1,3%
HPV 58	1,3%	3,2%	2,2%	2,1%	1,8%	3,0%
HPV 59	2,3%	2,4%	2,7%	1,1%	2,3%	0,9%
HPV 66	2,5%	1,5%	0,8%	1,3%	2,3%	1,3%
HPV 67	1,1%	1,2%	1,8%	0,6%	2,1%	1,1%
HPV 68	1,4%	3,1%	3,8%	1,5%	3,9%	1,9%



### Interferující látky

Uměle připravené vzorky PreservCyt byly obohaceny rekombinantním bakulovirem obsahujícím oblasti ampliconu HPV 16, 18, 51 a  $\beta$ -globinem v koncentraci 1 000 kopií/ml a látkami uvedenými v *Tabulce 8*. Žádná z látek neměla na provedení analýzy významný inhibiční účinek.

**Tabulka 8.** Testované potenciálně interferující látky

	Látka	Koncentrace
Endogenní	Plná krev (lidská)	1% (obj./obj.)
	Leukocyty	10 <sup>6</sup> buněk/ml
	Mucin	1% (obj./obj.)
Exogenní	Irigátor	1% (obj./obj.)
	Krém proti plísním	1% (hm./obj.)
	Spermicid	1% (hm./obj.)
	Vaginální lubrikant	1% (hm./obj.)
	Sprej pro ženy	1% (obj./obj.)
	Antikoncepční pěna	1% (hm./obj.)

### Stabilita vzorku v systému

Rekombinantní kontrola bakuloviru obsahující cíle pro HPV 16, 18, 51 a  $\beta$ -globin byla obohacena na  $\sim 3 \times$  LOD cp/ml buď v odběrovém médiu SurePath, nebo v odběrovém médiu PreservCyt, zpracována pomocí analýzy NeuMoDx HPV Assay. Na konci zpracování byly všechny zkumavky s pozitivními a negativními vzorky ponechány na pracovním stole systému po dobu 4, 8 a 24 hodin a poté znovu otestovány. Očekávaný výsledek ve všech časových bodech byl u všech cytologických vzorků obohacených o cíle POSITIVE (POZITIVNÍ) a NEGATIVE (NEGATIVNÍ) (pro všechny cíle) v cytologických vzorcích, které cílem obohaceny nebyly. Ve 24hodinovém časovém bodu byla pozorována úplná shoda s očekávaným výsledkem, což prokázalo stabilitu v přístroji po dobu 24 hodin pro testování pomocí analýzy NeuMoDx HPV Assay. Výsledky jsou shrnuty v níže uvedeném *Tabulce 9*. U vzorků PreservCyt bylo zaznamenáno až 20% odpařování, když byly uloženy v soustavě po dobu 24 hodin, ale nemělo to vliv na detekci cílů na testované úrovni.

**Tabulka 9.** Shrnutí údajů týkajících se stability vzorků v systému

Stabilita vzorku v přístroji	Cíl	PreservCyt		SurePath	
		T <sub>0</sub>	24 h	T <sub>0</sub>	24 h
		% shoda	% shoda	% shoda	% shoda
Pozitivní sada	HPV 16	100 %	100 %	100 %	100 %
	HPV 18	100 %	100 %	100 %	100 %
	Ostatní HPV	100 %	100 %	100 %	100 %
	$\beta$ -globin	100 %	100 %	100 %	100 %
Negativní sada	Negativní (pouze $\beta$ -globin)	100 %	100 %	100 %	100 %

### Klinická účinnost – odběrové médium PreservCyt

Klinická citlivost a specifická analýza NeuMoDx HPV Assay pro cervikální intraepiteliální neoplazii stupně 2 nebo vyšší (CIN2+) v cervikálních vzorcích odebraných do roztoku PreservCyt byly vyhodnoceny noninferiorní analýzou ve srovnání s referenční analýzou (tj. GP5+/6+-PCR-EIA vysoce rizikového HPV) podle mezinárodních pokynů pro požadavky na testování HPV pro screening cervikálního karcinomu.<sup>16</sup> Pomocí formátu případové kontrolní studie bylo testováno 67 vzorků od žen ve věku 30 let a starších s histologicky potvrzenou CIN2+ (tj. případy; *tabulka 10*). Pro klinickou specifickou bylo testováno 823 po sobě jdoucích cytologických vzorků odebraných do kapaliny ze screeningové populace žen s normální cytologií a bez důkazu CIN2+ během dvou let sledování (tj. kontroly). Celková úspěšnost s analýzou NeuMoDx HPV Assay byla 99,4 % (818/823), viz *tabulka 11*. Klinická citlivost analýzy NeuMoDx HPV Assay pro CIN2+ byla 92,5 % (62/67; 95 % CI 83,3–96,9) a klinická specifická pro CIN2+ byla 95,6 % (782/818; 95 % CI 92,2–97,6), přičemž obě byly nižší než u referenční analýzy GP5+/6+-PCR-EIA ( $P = 0,02$ , respektive  $P < 0,0001$ ).

**Tabulka 10.** Výsledky klinické citlivosti vzorků od žen starších 30 let s potvrzenou CIN2+

Referenční test	NeuMoDx HPV Assay		
	POZ	NEG	CELKEM
POZ	61	2	63
NEG	1	3	4
CELKEM	62	5	67
Klinická citlivost analýzy NeuMoDx HPV Assay: 92,5 % (95% CI 83,3–96,9)			

**Tabulka 11.** Výsledky klinické specifčnosti vzorků od žen s normální cytologií a bez potvrzené CIN2+

Referenční test	NeuMoDx HPV Assay		
	POZ	NEG	CELKEM
POZ	28	19	47
NEG	8	763	771
CELKEM	36	782	818
Klinická specifčnost analýzy NeuMoDx HPV Assay: 95,6% (95% CI 92,2-97,6)			

U žen mladších 30 let bylo testováno 173 cytologických vzorků v kapalině od žen navštěvujících polikliniku. Úspěšnost analýzy NeuMoDx HPV Assay byla 98,3 % (170/173) (*Tabulka 12*). Citlivost na CIN3+ analýzy NeuMoDx HPV Assay byla 91,1 % (41/45; 95% CI 78,6–96,6) a specifčnost k CIN3+ byla 51,2 % (64/125; 95% CI 42,5–60,0). Relativní hodnoty citlivosti a specifčnosti ve srovnání s testem QIAScreen HPV PCR Test byly 1,03, respektive 1,10.

**Tabulka 12.** Výkonnost analýzy NeuMoDx HPV Assay u žen ve věku < 30 let, stratifikace podle histologie a testu QIAScreen HPV PCR Test

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

U žen s ASC-US nebo LSIL byla klinická citlivost pro CIN2+ 91,7 % (11/12; 95 % CI 58,7–98,8) a klinická specifčnost pro CIN2+ byla 75,0 % (15/20; 95 % CI 52,2–89,2) (*tabulka 13*).

**Tabulka 13.** Výkonnost analýzy NeuMoDx HPV Assay u žen s cytologií ASC-US/LSIL, stratifikace podle histologie a výsledku referenčního testu

Histologie	Referenční analýza	NeuMoDx HPV Assay		
		NEG	POZ	CELKEM
<=CIN1	NEG	13	-	13
	POZ	2	5	7
	CELKEM	15	5	20
CIN2	NEG	-	-	-
	POZ	-	6	6
	CELKEM	-	6	6
CIN3+	NEG	1	-	1
	POZ	-	5	5
	CELKEM	1	5	6
CELKOVĚ	NEG	14	-	14
	POZ	2	16	18
	CELKEM	16	16	32

### Klinická účinnost – odběrové médium SurePath

Klinická citlivost a specifická analýzy NeuMoDx HPV Assay pro detekci CIN2+ byla stanovena s použitím 948 vzorků stěru z děložního hrdla, které byly odebrány do odběrového média SurePath s použitím formátu případové kontrolní studie. Relativní citlivost a specifická pro CIN2+ u analýzy NeuMoDx HPV Assay ve srovnání s klinicky validovanou referenční analýzou (tj. HPV-Risk Assay) byla stanovena na základě statistické metody „noninferiorní test skóre“.

Klinická citlivost byla stanovena pomocí 106 vzorků od žen s diagnostikovaným, histologicky potvrzeným stavem CIN2+ (tj. případy). Průměrný věk žen byl 38 (rozmezí 30–58) let. Citlivost analýzy NeuMoDx HPV Assay byla stanovena na 92,5 % (98/106; 95% CI: 85,6–96,2) a stejné jako u referenční analýzy HPV-Risk (tabulka 14). Relativní citlivost analýzy NeuMoDx HPV Assay ve srovnání s analýzou HPV-Risk byla 1,00 s hodnotou noninferiorního testu skóre  $P = 0,0009$ .

Klinická specifická byla stanovena na základě 842 odebraných vzorků LBC (SurePath) ze screeningové populace žen s normální cytologií a bez prokázání CIN2+ do 2 let od sledování. Průměrný věk žen byl 43 (rozmezí 30–59) let a platných bylo 98,6 % (935/948) otestovaných vzorků. Specifická analýzy NeuMoDx HPV Assay byla 93,5 % (775/829; 95% CI: 91,6–95,0) a specifická referenční analýzy HPV-Risk byla 91,9 % (762/829; 95% CI: 89,9–93,6) (tabulka 15). Relativní specifická analýzy NeuMoDx HPV Assay ve srovnání s analýzou HPV-Risk byla 1,02 s hodnotou noninferiorního testu skóre  $P < 0,0001$ .

**Tabulka 14.** Výsledky klinické citlivosti vzorků od žen s potvrzenou CIN2+ v odběrovém médiu SurePath

Referenční test	NeuMoDx HPV Assay		
	POZ	NEG	CELKEM
POZ	97	1	98
NEG	1	7	8
CELKEM	98	8	106
Klinická citlivost analýzy NeuMoDx HPV Assay: 92,5 % (95% CI 85,6-96,2)			

**Tabulka 15.** Výsledky klinické specifické vzorků od žen s normální cytologií a bez potvrzené CIN2+ v odběrovém médiu SurePath

Referenční test	NeuMoDx HPV Assay		
	POZ	NEG	CELKEM
POZ	48	6	54
NEG	19	756	775
CELKEM	67	775	842
Klinická specifická analýzy NeuMoDx HPV Assay: 93,5% (95% CI 91,6-95,0)			

### Klinická reprodukovatelnost

Vnitrolaboratorní reprodukovatelnost a mezilaboratorní shoda testu u klinických vzorků odebraných do roztoku PreservCyt byly vyhodnoceny v souladu s mezinárodními směrnici pro požadavky na testy HPV pro screening cervikálního karcinomu.<sup>16</sup> Vnitrolaboratorní reprodukovatelnost u cervikálních vzorků po celé délce této studie byla 96,0 % (484/504; 95% CI 94,3–97,4) s hodnotou kappa ( $\kappa$ ) 0,90 (tabulka 16). Výsledky z těchto testovacích bodů byly poté posouzeny z hlediska shody s výsledky jiného testovacího pracoviště, což poskytlo mezilaboratorní shodu 96,4 % (486/504; 95% CI 94,8–97,7) s  $\kappa = 0,91$  a 94,4 % (476/504; 95% CI 92,5–96,1) s  $\kappa = 0,86$  pro první a druhý testovací bod (tabulka 17).

**Tabulka 16.** Vnitrolaboratorní reprodukovatelnost v průběhu analýzy NeuMoDx HPV Assay

1. výsledek testu pro analýzu NeuMoDx HPV Assay	2. výsledek testu pro analýzu NeuMoDx HPV Assay		
	NEG	POZ	CELKEM
NEG	347	13	360
POZ	7	137	144
CELKEM	354	150	504
Reprodukovatelnost = 96,0 % (95% CI 94,3–97,4); $\kappa$ = 0,90			

**Tabulka 17.** Mezilaboratorní shoda analýzy NeuMoDx HPV Assay

Externí test pro analýzu NeuMoDx HPV Assay	NeuMoDx HPV Assay – výsledek interního testu 1			NeuMoDx HPV Assay – výsledek interního testu 2		
	NEG	POZ	CELKEM	NEG	POZ	CELKEM
NEG	355	13	368	347	21	368
POZ	5	131	136	7	129	136
CELKEM	360	144	504	354	150	504
96,4% shoda (95% CI 94,8–97,7); $\kappa$ = 0,91			94,4% shoda (95% CI 92,5-96,1); $\kappa$ = 0,86			

### REFERENCE

1. Walboomers J, Jacobs M, Manos M, Bosch F, Kummer J, Shah K, Snijders P, Peto J, Meijer C, Munoz N. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J.Pathol.* 1999;189(1):12-9.
2. Munoz N, Bosch F, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah K, Snijders P, Meijer C. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N.Engl.J.Med.* 2003;348(6):518-27.
3. Bosch F, Lorincz A, Munoz N, Meijer C, Shah K. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J.Clin.Pathol.* 2002;55(4):244-65.
4. Snijders P, Steenbergen R, Heideman D, Meijer C. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. *J.Pathol.* 2006;208(2):152-64.
5. Vinokurova S, Wentzensen N, Kraus I, Klaes R, Driesch C, Melsheimer P, Kisseljov F, Durst M, Schneider A, von Knebel DM. Type-dependent integration frequency of human papillomavirus genomes in cervical lesions. *Cancer Res.* 2008;68(1):307-13.
6. Kraus I, Driesch C, Vinokurova S, Hovig E, Schneider A, von Knebel D, Durst M. The majority of viral-cellular fusion transcripts in cervical carcinomas cotranscribe cellular sequences of known or predicted genes. *Cancer Res.* 2008;68(7):2514-22.
7. Horner S, DeFilippis R, Manuelidis L, DiMaio D. Repression of the human papillomavirus E6 gene initiates p53-dependent, telomerase-independent senescence and apoptosis in HeLa cervical carcinoma cells. *J.Virol.* 2004;78(8):4063-73.
8. Butz K, Ristriani T, Hengstermann A, Denk C, Scheffner M, Hoppe-Seyler F. siRNA targeting of the viral E6 oncogene efficiently kills human papillomavirus-positive cancer cells. *Oncogene* 2003;22(38):5938-45.
9. Baseman, J. G. & Koutsky, L. A. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J. Clin. Virol.* 32 (Suppl. 1), S16–S24 (2005).
10. Nobbenhuis M, Helmerhorst T, van den Brule A, Rozendaal L, Voorhorst F, Bezemer P, Verheijen R, Meijer C. Cytological regression and clearance of high-risk human papillomavirus in women with an abnormal cervical smear. *Lancet.* 2001;358(9295):1782-1783.
11. Rijkaart D, Berkhof J, Rozendaal L, van Kemenade F, Bulkman N, Heideman D, Kenter G, Cuzick J, Snijders P, Meijer C. 2012. Human papillomavirus testing for the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cancer: final results of the POBASCAM randomized controlled trial. *Lancet Oncol.* 13:78–88.
12. Sankaranarayanan R, Nene B, Shastri S, Jayant K, Muwonge R, Budukh A, Hingmire S, Malvi S, Thorat R, Kothari A, Chinoy R, Kelkar R, Kane S, Desai S, Keskar V, Rajeshwarkar R, Panse N, Dinshaw K. 2009. HPV screening for cervical cancer in rural India. *N. Engl. J. Med.* 360:1385–1394
13. Cubie H, Cuschieri K, Understanding HPV tests and their appropriate applications, *Cytopathology* 24 (5) (2013) 289–308.
14. Arbyn M, Ronco G, Anttila A, Meijer C, Poljak M, Ogilvie G, Koliopoulos G, Naucler P, Sankaranarayanan R, Peto J, Evidence regarding human papillomavirus testing in secondary prevention of cervical cancer, *Vaccine* 30 (Suppl. 5) (2012) F88–99.
15. Arbyn M, Roelens J, Simoons 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, 5<sup>th</sup> 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.

### OCHRANNÉ ZNÁMKY

NeuMoDx™ a NeuDry™ jsou ochranné známky společnosti NeuMoDx Molecular, Inc.















Hamilton® je registrovaná ochranná známka společnosti Hamilton Company.


PreservCyt® je registrovaná ochranná známka společnosti Hologic, Inc.

SurePath™ je ochranná známka společnosti Becton Dickinson (BD).

Všechny ostatní názvy produktů, ochranné známky a registrované ochranné známky, které se mohou objevit v tomto dokumentu, jsou majetkem příslušných vlastníků.

### LEGENDA K SYMBOLŮM

 <b>R only</b>	Pouze na lékařský předpis		Omezení teploty
	Výrobce		Nepoužívejte opakovaně
	Zdravotnický prostředek pro diagnostiku <i>in vitro</i>		Obsahuje dostatečné množství pro <n> testů
	Autorizovaný zástupce v Evropském společenství		Prostudujte si návod k použití
	Katalogové číslo		Upozornění
	Číslo šarže		Biologická rizika
	Datum spotřeby		Značka CE



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

Zadavatel (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



Technická podpora / vigilanční hlášení: [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

Patent: [www.neumodx.com/patents](http://www.neumodx.com/patents)