

REF Ταινία 617007 NeuMoDx™ HPV Test Strip
R only

ΠΡΟΣΟΧΗ: Μόνο για εξαγωγή από τις ΗΠΑ

IVD Για *in vitro* διαγνωστική χρήση με τα συστήματα NeuMoDx 288 και NeuMoDx 96 Molecular System

 Η ηλεκτρονική έκδοση διατίθεται στη διεύθυνση www.qiaqen.com/neumodx-ifu

Για αναλυτικές οδηγίες, ανατρέξτε στο Εγχειρίδιο χρήσης του συστήματος NeuMoDx 288 Molecular System, P/N 40600108

Για αναλυτικές οδηγίες, ανατρέξτε στο Εγχειρίδιο χρήσης του συστήματος NeuMoDx 96 Molecular System, P/N 40600317

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay, όπως εκτελείται στα συστήματα NeuMoDx 96 Molecular System και NeuMoDx 288 Molecular System (συστήματα NeuMoDx System), είναι μια ταχέως αυτοματοποιημένη, *in vitro* διαγνωστική μέθοδος προσδιορισμού ενίσχυσης νουκλεϊκών οξέων μέσω αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR) πραγματικού χρόνου για την ποιοτική ανίχνευση του DNA υψηλού κινδύνου τύπων του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων (Human Papillomavirus, HPV) σε τραχηλικά δοκίμια. Η εξέταση ταυτοποιεί ειδικά τους HPV16 και HPV18 ενώ ταυτοχρόνως ανιχνεύει τους άλλους υψηλού κινδύνου τύπους (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 και 68) σε κλινικά συναφή επίπεδα λοίμωξης. Στα τραχηλικά δοκίμια που μπορούν να εξεταστούν με τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay περιλαμβάνονται δοκίμια τραχήλου της μήτρας κυτταρολογίας υγρής φάσης, που έχουν συλλεχθεί από κλινικό ιατρό με τη χρήση συσκευής συλλογής που μοιάζει με ψήκτρα/βουρτσάκι και συνηρούνται σε PreservCyt® (HOLOGIC) και SurePath™ (BD). Η μέθοδος προσδιορισμού προορίζεται να χρησιμοποιηθεί ως πρωτοβάθμια εξέταση στον προσυμπτωματικό έλεγχο γυναικών ηλικίας 21 ετών και άνω, για την αξιολόγηση του κινδύνου για καρκίνο (ή προκαρκινικές αλλοιώσεις) του τραχήλου της μήτρας, προκειμένου να προσδιοριστεί η ανάγκη παραπομπής για κολποσκόπηση ή άλλες εξετάσεις επανελέγχου, και ως εξέταση επανελέγχου σε γυναίκες που είχαν ως αποτέλεσμα στο τεστ Παπανικολάου (Pap test) άτυπα πλακώδη κύτταρα απροσδιόριστης σημασίας (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) ή χαμηλού βαθμού πλακώδη ενδοεπιθηλιακή αλλοίωση (Low-grade Squamous Intra-epithelial Lesion, LSIL), προκειμένου να προσδιοριστεί η ανάγκη παραπομπής για κολποσκόπηση ή άλλες εξετάσεις επανελέγχου. Οι πληροφορίες αυτές, μαζί με την εκτίμηση του ιατρού σχετικά με το κυτταρολογικό ιστορικό, άλλους παράγοντες κινδύνου και τις επαγγελματικές κατευθυντήριες οδηγίες, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την καθοδήγηση της αντιμετώπισης των ασθενών.

Αυτό το προϊόν προορίζεται να χρησιμοποιηθεί από επαγγελματίες χρήστες, όπως τεχνικοί και εργαστηριακοί επιστήμονες, που έχουν εκπαιδευτεί σε *in vitro* διαγνωστικές διαδικασίες και σε μοριακές βιολογικές τεχνικές.

ΣΥΝΟΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας και οι πρόδρομες αλλοιώσεις του [τραχηλική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN)] προκαλούνται από εμμένουσα λοίμωξη με έναν υψηλού κινδύνου τύπο του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων (Human Papillomavirus, HPV).¹⁻³ Οι τύποι του ιού HPV ανήκουν στην οικογένεια των Papillomaviridae και είναι μικροί ιοί με δίκλωνο DNA. Το κυκλικό γονιδίωμα έχει μέγεθος 7,9 χιλιάδων βάσεων κατά προσέγγιση. Έχουν ταυτοποιηθεί περισσότεροι από 100 τύποι του ιού HPV, και από αυτούς ορισμένοι τύποι του ιού HPV, που είναι γνωστοί ως HPV υψηλού κινδύνου (High-Risk HPV, hrHPV), όπως οι HPV 16 και 18, σχετίζονται με την πρόκληση βλεννογονικών αλλοιώσεων που μπορούν να εξελιχθούν σε κακοήθεια. Το ικό γονιδίωμα περιέχει πρώιμα (Early, E) και όψιμα (Late, L) γονίδια, τα οποία κωδικοποιούν πρωτεΐνες που είναι απαραίτητες για τα πρώιμα και τα όψιμα στάδια, αντίστοιχα, του κύκλου ζωής του ιού HPV. Τα προϊόντα των γονιδίων E6 και E7 των τύπων hrHPV έχουν καρκινογόνες ιδιότητες και είναι απαραίτητα για την κακοήθη μεταμόρφωση του κυττάρου-ξενιστή.⁴ Η κακοήθης εξέλιξη συνοδεύεται συχνά από την ενσωμάτωση του ικού γονιδιώματος στο γονιδίωμα του κυττάρου-ξενιστή.⁵ Η ενσωμάτωση έχει ως αποτέλεσμα τη διακοπή του ικού γονιδιώματος σε μια περιοχή που μπορεί να εκτείνεται από το ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης E1 έως το ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης L1.⁶ Αυτό μπορεί να έχει συνέπειες για τη διαμεσολαβούμενη από PCR ενίσχυση του ικού DNA σε αυτές τις περιοχές. Καθώς όχι μόνον η έναρξη αλλά και η διατήρηση του μεταμορφωμένου φαινοτύπου εξαρτάται από τη συνεχή έκφραση των ικών ογκοπρωτεϊνών, η ική περιοχή E6/E7 παραμένει αμετάβλητη στα ενσωματωμένα ικά γονιδιώματα στους καρκίνους του τραχήλου της μήτρας.^{5,7,8}

Ο καρκίνος της μήτρας είναι μια σπάνια επιπλοκή της λοίμωξης από τον HPV. Ο δια βίου κίνδυνος μιας λοίμωξης από hrHPV εκτιμάται ότι είναι περίπου 80% και στη μεγάλη τους πλειονότητα οι λοιμώξεις εξαλείφονται από το ανοσιακό σύστημα του ξενιστή και δεν καταλήγουν στη δημιουργία αλλοιώσεων.⁹ Μετά την εξάλειψη της λοίμωξης από τον HPV, οι αλλοιώσεις CIN συνήθως υποστρέφουν.¹⁰

Η εξέταση για το DNA του HPV παρέχει καλύτερη προστασία από τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας και τις πρόδρομες αλλοιώσεις του τύπου τραχηλικής ενδοεπιθηλιακής νεοπλασίας (Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN) συγκριτικά με την κυτταρομορφολογική ανάλυση (δηλ. επίχρισμα Pap) σε δείγματα από τον τράχηλο της μήτρας κατά τον πρωτοβάθμιο προσυμπτωματικό έλεγχο σε γυναίκες ηλικίας 30 ετών και άνω και κατά τη διαλογή γυναικών ηλικίας 21 ετών και άνω με κυτταρολογική εικόνα του τραχήλου της μήτρας τύπου ASC-US ή LSIL (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US).¹¹⁻¹⁵ Ο βασικόμοστος στον HPV πρωτοβάθμιος προσυμπτωματικός έλεγχος για τον τράχηλο της μήτρας εφαρμόζεται σε αρκετές χώρες παγκοσμίως, ενώ για τις απαιτήσεις των εξετάσεων του DNA του HPV για τον πρωτοβάθμιο προσυμπτωματικό έλεγχο του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας έχουν δημοσιευθεί διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες.¹⁶ Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay στοχεύει μια συνηρημένη περιοχή μέσα στο γονίδιο E7 του γονιδιώματος του HPV, παρακάμπτοντας με αυτόν τον τρόπο πιθανά ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα από την ενσωμάτωση του ιού στο γονιδίωμα του ξενιστή.

ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay συνδυάζει αυτοματοποιημένη εκχύλιση DNA και ενίσχυση/ανίχνευση μέσω PCR πραγματικού χρόνου. Τα τραχηλικά δοκίμια συλλέγονται σε διάλυμα κυτταρολογίας υγρής φάσης και στη συνέχεια μεταφέρονται σε συμβατό δευτερεύον σωληνάριο δοκιμίου, που φέρει ετικέτα γραμμωτού κωδικού, και τοποθετείται στο σύστημα NeuMoDx System. Το NeuMoDx System αναρροφά αυτόματα ένα κλάσμα του δοκιμίου προκειμένου να αναμιχθεί με ρυθμιστικό διάλυμα NeuMoDx Lysis Buffer 2 και τους παράγοντες που περιέχονται στην πλάκα NeuMoDx Extraction Plate για να ξεκινήσει η επεξεργασία. Το NeuMoDx System αυτοματοποιεί και ενσωματώνει την εκχύλιση και τη συμπύκνωση του DNA, την προετοιμασία των αντιδραστηρίων και την ενίσχυση/ανίχνευση του νουκλεϊκού οξέως των

στοχευόμενων αλληλουχιών με τη χρήση PCR πραγματικού χρόνου. Το DNA της β-σφαιρίνης (β-Globin, βG), το οποίο υπάρχει σε κάθε δοκίμιο τραχήλου της μήτρας που έχει συλλεχθεί σωστά, χρησιμεύει ως ενδογενής μάρτυρας επεξεργασίας δείγματος και βοηθά στην παρακολούθηση για την παρουσία ανασταλτικών ουσιών και τυχόν αστοχιών του συστήματος, της διαδικασίας ή των αντιδραστηρίων. Δεν απαιτείται καμία παρέμβαση από τον χειριστή μετά τη φόρτωση του δοκιμίου και των απαραίτητων αναλωσίμων στο NeuMoDx System.

Το NeuMoDx System εκτελεί αυτόματα λύση, εκχύλιση DNA και απομάκρυνση των αναστολέων. Τα αποδεσμευμένα νουκλεϊκά οξέα συλλαμβάνονται από παραμαγνητικά σωματίδια. Τα σωματίδια, μαζί με το δεσμευμένο νουκλεϊκό οξύ, φορτώνονται στη φύσιγγα NeuMoDx Cartridge, όπου τα μη δεσμευμένα στοιχεία εκπλένονται με το αντιδραστήριο NeuMoDx Wash Reagent. Στη συνέχεια, το δεσμευμένο DNA εκλύεται με τη χρήση του αντιδραστηρίου NeuMoDx Release Reagent. Το σύστημα NeuMoDx System χρησιμοποιεί το εκλυόμενο DNA για την εκ νέου ενυδάτωση των αποκλειστικών αντιδραστηρίων ενίσχυσης NeuDry™ που περιέχουν όλα τα απαραίτητα συστατικά για 40 κύκλους ενίσχυσης των 15 στόχων HPV (εφόσον υπάρχουν), καθώς και του στόχου β-σφαιρίνης. Με αυτόν τον τρόπο, είναι δυνατή η ταυτόχρονη ενίσχυση και ανίχνευση των αλληλουχιών DNA του στόχου και του μάρτυρα. Μετά την ανασύσταση των αφυδατωμένων αντιδραστηρίων PCR, το σύστημα NeuMoDx System διανέμει το προετοιμασμένο, έτοιμο για PCR μίγμα σε έναν θάλαμο PCR (ανά δοκίμιο) της φύσιγγας NeuMoDx Cartridge. Η ενίσχυση και η ανίχνευση των αλληλουχιών μάρτυρα και στόχων (εάν υπάρχουν) πραγματοποιούνται στον θάλαμο PCR. Η φύσιγγα NeuMoDx Cartridge έχει σχεδιαστεί έτσι ώστε να περιορίζει το αμπλικόνιο μετά την PCR, εξαλείφοντας ουσιαστικά τον κίνδυνο επιμόλυνσης μετά την ενίσχυση.

Οι ενισχυμένοι στόχοι ανιχνεύονται σε πραγματικό χρόνο μέσω χημείας ανιχνευτών υδρόλυσης (κοινώς αναφέρεται ως χημεία TaqMan®), με τη χρήση μορίων ανιχνευτή φθορίζοντος ολιγονουκλεοτιδίου ειδικών για τα αμπλικόνια των αντίστοιχων στόχων. Οι ανιχνευτές TaqMan αποτελούνται από ένα φθοροφόρο ομοιοπολικό προσαρτημένο στο άκρο 5' του ολιγονουκλεοτιδίου ανιχνευτή και έναν αναστολέα στο άκρο 3'. Ενώ ο ανιχνευτής είναι άθικτος, το φθοροφόρο και ο αναστολέας βρίσκονται κοντά, έτσι ώστε το μόριο του αναστολέα να μπορεί να καταστείλει το φθορισμό που εκπέμπεται από το φθοροφόρο μέσω μεταφοράς ενέργειας λόγω συντονισμού κατά Förster (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Οι ανιχνευτές TaqMan έχουν σχεδιαστεί έτσι ώστε να αναδιατάσσονται εντός μιας περιοχής DNA που έχει ενισχυθεί από ένα ειδικό σύνολο εκκινητών. Καθώς η Taq DNA πολυμεράση επεκτείνει τον εκκινητή και συνθέτει τον νέο κλώνο, η δράση της Taq DNA πολυμεράσης στην 5' προς 3' εξωνουκλεάση διασπά τον ανιχνευτή που έχει αναδιαταχθεί σύμφωνα με το πρότυπο. Με τη διάσπαση του ανιχνευτή, το φθοροφόρο απελευθερώνεται και απομακρύνεται από τον αναστολέα, υπερνικώντας έτσι την κατασταλτική επίδραση λόγω της FRET και επιτρέποντας την ανίχνευση του φθοροφόρου. Το φθορίζον σήμα που προκύπτει και ανιχνεύεται στον θερμικό κυκλοποιητή PCR του συστήματος NeuMoDx System είναι ευθέως ανάλογο προς το φθοροφόρο που απελευθερώνεται και μπορεί να συσχετιστεί με την ποσότητα του RNA του στόχου που υπάρχει.

Ένας ανιχνευτής TaqMan επισημασμένος με φθοροφόρο στο άκρο 5' και ένας σκοτεινός αναστολέας στο άκρο 3' χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση των τύπων HPV 16 (470/510 nm), HPV 18 (625/660 nm) και των υπόλοιπων υψηλού κινδύνου (High Risk, HR) τύπων [«HPV Other» (Άλλοι HPV) 530/555 nm]. Για την ανίχνευση της β-σφαιρίνης, ο ανιχνευτής TaqMan επισημαίνεται με φθορίζουσα χρωστική (585/610 nm) στο άκρο 5' και έναν σκοτεινό αναστολέα στο άκρο 3'. Το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System παρακολουθεί το σήμα φθορισμού που εκπέμπεται από τους ανιχνευτές TaqMan στο τέλος κάθε κύκλου ενίσχυσης. Όταν ολοκληρωθεί η ενίσχυση, το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System αναλύει τα δεδομένα και αναφέρει ένα αποτέλεσμα [POSITIVE (Θετικό)/NEGATIVE (Αρνητικό)/INDETERMINATE (Απροσδιόριστο)/UNRESOLVED (Χωρίς απάντηση)/NO RESULT (Χωρίς αποτέλεσμα)].

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ / ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ

Παρεχόμενα υλικά

REF	Περιεχόμενα	Τεμάχια ανά συσκευασία	Εξετάσεις ανά τεμάχιο	Εξετάσεις ανά συσκευασία
617007	Ταινία NeuMoDx HPV Test Strip Αφυδατωμένα αντιδραστήρια PCR που περιέχουν ανιχνευτή και εκκινητές TaqMan® ειδικά για τον HPV και τη βG	6	16	96

Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται (διατίθενται ξεχωριστά από τη NeuMoDx)

REF	Περιεχόμενα
100200	Πλάκα NeuMoDx Extraction Plate Αφυδατωμένα παραμαγνητικά σωματίδια, λυτικό ένζυμο και μάρτυρας β-σφαιρίνης
400500	Ρυθμιστικό διάλυμα NeuMoDx Lysis Buffer 2
401600	Ρυθμιστικό διάλυμα NeuMoDx Viral Lysis Buffer*
400100	Αντιδραστήριο πλύσης NeuMoDx Wash Reagent
400200	Αντιδραστήριο αποδέσμευσης NeuMoDx Release Reagent
100100	Φύσιγγα NeuMoDx Cartridge
235903	Ρύγγη Hamilton® CO-RE / CO-RE II (300 μL) με φίλτρα
235905	Ρύγγη Hamilton CO-RE / CO-RE II (1.000 μL) με φίλτρα

*Απαιτείται για την επεξεργασία προεπεξεργασμένων δειγμάτων SurePath

Όργανα που απαιτούνται

Σύστημα NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] ή σύστημα NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200]

⚠️ ⓘ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

- Η ταινία NeuMoDx HPV Test Strip παρέχεται για *in vitro* διαγνωστική χρήση μόνο με τα συστήματα NeuMoDx System.
- Μη χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια ή τα αναλώσιμα μετά την ημερομηνία λήξης που παρατίθεται.
- Μη χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια, αν η σφράγιση ασφαλείας έχει σπάσει ή αν η συσκευασία έχει φθορές κατά την άφιξη.
- Μη χρησιμοποιείτε αναλώσιμα ή αντιδραστήρια, αν το προστατευτικό σακουλάκι είναι ανοικτό ή σκισμένο κατά την άφιξη.
- Ο ελάχιστος όγκος δοκιμίου των δευτερευόντων κλασμάτων εξαρτάται από το μέγεθος του σωληναρίου/το φορέα σωληναρίων δοκιμίου, όπως καθορίζεται παρακάτω. Κάθε όγκος που είναι μικρότερος από τον ελάχιστο προσδιορισμένο ενδέχεται να προκαλέσει σφάλμα «Quantity Not Sufficient» (Ανεπαρκής ποσότητα).
- Η χρήση δοκιμίων που έχουν αποθηκευτεί σε ακατάλληλες θερμοκρασίες ή για χρονικό διάστημα που υπερβαίνει τους καθορισμένους χρόνους φύλαξης ενδέχεται να προκαλέσει μη έγκυρα ή εσφαλμένα αποτελέσματα.
- Μόνο δοκίμια SurePath που έχουν υποβληθεί σε προεπεξεργασία με ρυθμιστικό διάλυμα Viral Lysis Buffer μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε συστήματα NeuMoDx Molecular Systems. Τα καθαρά δοκίμια μπορεί να οδηγήσουν σε μη έγκυρα ή μη βέλτιστα αποτελέσματα.
- Σε μελέτες επικύρωσης που διενεργήθηκαν προκειμένου να αξιολογηθεί η σταθερότητα των δοκιμών επί του συστήματος, παρατηρήθηκε έως και 20% εξάτμιση του δοκιμίου λόγω της υψηλής πηκτικότητας του μέσου συλλογής PreservCyt. Αυτό δεν αναμένεται να επηρεάσει αρνητικά τα αποτελέσματα των δειγμάτων, αλλά θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη κατά την προετοιμασία δειγμάτων για καθυστερημένη επεξεργασία. Δεν παρατηρήθηκε σημαντική εξάτμιση στα προεπεξεργασμένα δοκίμια SurePath.
- Αποφεύγετε την επιμόλυνση όλων των αντιδραστηρίων και των αναλώσιμων με μικρόβια και δεοξυριβονουκλεάση (DNάση). Συνιστάται η χρήση αποστειρωμένων πιπέτων μεταφοράς μίας χρήσης, χωρίς DNάση, κατά τη χρήση δευτερευόντων σωληναρίων. Χρησιμοποιείτε νέα πιπέτα για κάθε δοκίμιο.
- Για την αποφυγή της επιμόλυνσης, μη χειρίζεστε και μην αποσυναρμολογείτε καμία φύσιγγα NeuMoDx Cartridge μετά την ενίσχυση. Σε καμία περίπτωση μην επαναφέρετε φύσιγγες NeuMoDx Cartridge από τον περιέκτη βιολογικά επικίνδυνων αποβλήτων (NeuMoDx 288 Molecular System) ή από τον κάδο βιολογικά επικίνδυνων αποβλήτων (NeuMoDx 96 Molecular System). Η φύσιγγα NeuMoDx Cartridge έχει σχεδιαστεί ώστε να αποτρέπεται η επιμόλυνση.
- Σε περιπτώσεις όπου διενεργούνται επίσης από το εργαστήριο εξετάσεις PCR ανοικτού σωληναρίου, πρέπει να δίνεται προσοχή ώστε να διασφαλίζεται ότι η ταινία NeuMoDx HPV Test Strip, τα πρόσθετα αναλώσιμα και αντιδραστήρια που απαιτούνται για την εξέταση, τα μέσα ατομικής προστασίας όπως γάντια και εργαστηριακές ποδιές, καθώς και το σύστημα NeuMoDx System δεν θα επιμολυνθούν.
- Θα πρέπει να φοράτε καθαρά γάντια νιτριλίου χωρίς πούδρα κατά το χειρισμό των αντιδραστηρίων και των αναλωσίμων NeuMoDx. Θα πρέπει να δίνεται προσοχή ώστε να μην υπάρχει επαφή με την επάνω επιφάνεια της φύσιγγας NeuMoDx Cartridge, την επιφάνεια σφράγισης αλουμινοφύλλου της ταινίας NeuMoDx HPV Test Strip ή την πλάκα NeuMoDx Extraction Plate, ή με την επάνω επιφάνεια του ρυθμιστικού διαλύματος NeuMoDx Lysis Buffer 2. Ο χειρισμός των αναλώσιμων και των αντιδραστηρίων θα πρέπει να πραγματοποιείται με επαφή μόνο στις πλευρικές επιφάνειες.
- Παρέχονται Δελτία Δεδομένων Ασφάλειας (ΔΔΑ) για κάθε αντιδραστήριο (κατά περίπτωση) στη διεύθυνση www.giagen.com/neumodx-ifu.
- Πλένετε σχολαστικά τα χέρια σας μετά την εκτέλεση της εξέτασης.
- Μην πραγματοποιείτε αναρρόφηση με το στόμα. Μην καπνίζετε, μην τρώτε και μην πίνετε σε χώρους όπου πραγματοποιείται χειρισμός δοκιμών ή αντιδραστηρίων.
- Χειρίζεστε πάντα τα δοκίμια με τον τρόπο που θα χειριζόσασταν μολυσματικές ουσίες και σύμφωνα με ασφαλείς εργαστηριακές διαδικασίες, όπως αυτές που περιγράφονται στο έγγραφο *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (Βιοασφάλεια σε μικροβιολογικά και βιοϊατρικά εργαστήρια)¹⁷ και στο έγγραφο M29-A4 του CLSI.¹⁸
- Απορρίψτε τα μη χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια και τα απόβλητα σύμφωνα με τους εθνικούς, ομοσπονδιακούς, περιφερειακούς, κρατικούς και τοπικούς κανονισμούς.
- Να μην επαναχρησιμοποιείται.

ΦΥΛΑΞΗ, ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ

- Οι ταινίες NeuMoDx HPV Test Strip είναι σταθερές στην κύρια συσκευασία έως την ημερομηνία λήξης που αναφέρεται στην άμεση ετικέτα του προϊόντος όταν φυλάσσονται σε θερμοκρασία 15 έως 23 °C.
- Μην επαναφορτώνετε κανένα προϊόν εξέτασης που είχε φορτωθεί πριν σε άλλο σύστημα NeuMoDx System.
- Μετά τη φόρτωση, η ταινία NeuMoDx HPV Test Strip μπορεί να παραμείνει επί του συστήματος NeuMoDx System για 14 ημέρες. Η υπολειπόμενη διάρκεια ζωής των φορτωμένων δοκιμαστικών ταινιών παρακολουθείται από το λογισμικό και αναφέρεται στον χρήστη σε πραγματικό χρόνο. Το σύστημα θα εμφανίζει ειδοποίηση για την αφαίρεση των δοκιμαστικών ταινιών που έχουν χρησιμοποιηθεί για διάστημα μεγαλύτερο από το επιτρεπόμενο.

ΣΥΛΛΟΓΗ, ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ, ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΔΟΚΙΜΙΩΝ

1. Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay προορίζεται να χρησιμοποιηθεί με δείγματα που λαμβάνονται από τραχηλικά δοκίμια. Το επικυρωμένο μέσο συλλογής για τραχηλικά δοκίμια είναι το PreservCyt και το SurePath. Ακολουθείτε τις οδηγίες του κατασκευαστή της συσκευής συλλογής δοκιμών για την προετοιμασία και τη φύλαξη.
2. Τα δοκίμια SurePath πρέπει να έχουν υποβληθεί σε προεπεξεργασία πριν από τη χρήση, σύμφωνα με τις παρακάτω ειδικές οδηγίες.
3. **Τα δείγματα υπό ψύξη θα πρέπει να εξισορροπούνται σε θερμοκρασία δωματίου για τουλάχιστον 30 λεπτά πριν από την επεξεργασία για τη διασφάλιση της κατάλληλης απόδοσης στο σύστημα.**
4. Τα προετοιμασμένα τραχηλικά δοκίμια μπορούν να φυλαχθούν στο σύστημα NeuMoDx System για έως και 24 ώρες πριν από την επεξεργασία. Αν απαιτείται επιπλέον χρόνος φύλαξης, συνιστάται τα δοκίμια να φυλάσσονται σύμφωνα με τις εξής οδηγίες:

Τραχηλικά δοκίμια σε PreservCyt:

- a. Έως και 6 εβδομάδες μετά τη δειγματοληψία όταν φυλάσσονται σε θερμοκρασία 15–25 °C
- b. Έως και 3 μήνες μετά τη δειγματοληψία όταν φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2–8 °C
- c. Έως και 8 έτη όταν φυλάσσονται σε θερμοκρασία -80 °C. Αν τα δοκίμια καταψυχθούν, αφήστε τα να αποψυχθούν πλήρως σε θερμοκρασία δωματίου (15–30 °C) και στροβιλίστε τα για να παραχθεί ένα ομοιόμορφα κατανεμημένο δείγμα.

Τραχηλικά δοκίμια σε SurePath:

- a. Έως και 30 ημέρες μετά τη δειγματοληψία όταν φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2–30 °C
 - b. Έως και 180 ημέρες μετά τη δειγματοληψία όταν φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2–8 °C
 - c. Έως και 180 ημέρες όταν φυλάσσονται σε θερμοκρασία -20 °C. Αν τα δοκίμια καταψυχθούν, αφήστε τα να αποψυχθούν πλήρως σε θερμοκρασία δωματίου (15–30 °C) και στροβιλίστε τα για να παραχθεί ένα ομοιόμορφα κατανεμημένο δείγμα.
5. Αν τα δοκίμια αποσταλούν, θα πρέπει να συσκευαστούν και να επισημανθούν σε συμμόρφωση με τους ισχύοντες κρατικούς ή/και διεθνείς κανονισμούς.
 6. Επισημαίνετε με σαφήνεια τα δοκίμια και υποδεικνύετε ότι προορίζονται για εξέταση HPV.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

Προετοιμασία εξέτασης - PRESERVCYT

1. Εφαρμόστε ετικέτα γραμμωτού κωδικού δοκιμίου σε ένα σωληνάριο δοκιμίου που είναι συμβατό με το σύστημα NeuMoDx System.
2. Τοποθετήστε το σωληνάριο με ετικέτα γραμμωτού κωδικού σε έναν φορέα σωληναρίων δοκιμίου και βεβαιωθείτε ότι έχετε αφαιρέσει το καπάκι πριν από τη φόρτωση στο σύστημα NeuMoDx System.
3. Προβείτε σε κλασματοποίηση του δοκιμίου σύμφωνα με τους όγκους που ορίζονται παρακάτω για τα δείγματα **PreservCyt**:
 - Φορέας σωληναρίων δοκιμίου (32 σωληναρίων): διάμετρος 11–14 mm και ύψος 60–120 mm, ελάχιστος όγκος πλήρωσης = 400 µL
 - Φορέας σωληναρίων δοκιμίου (24 σωληναρίων): διάμετρος 14,5–18 mm και ύψος 60–120 mm, ελάχιστος όγκος πλήρωσης = 850 µL
 - Φορέας σωληναρίων δοκιμίου χαμηλού όγκου (32 σωληναρίων): σωλήνας μικροφυγοκέντρησης με κωνικό πυθμένα και χωρητικότητα 1,5 mL, ο ελάχιστος όγκος πλήρωσης είναι = 250 µL

Προετοιμασία εξέτασης - SUREPATH

1. Υποβάλετε το δοκίμιο SurePath σε προεπεξεργασία με όγκο 1:1 ρυθμιστικού διαλύματος NeuMoDx Viral Lysis Buffer και αναμίξτε σχολαστικά. Χρησιμοποιήστε κατάλληλο όγκο σύμφωνα με την τιμή ελάχιστου όγκου δοκιμίου που καθορίζεται παρακάτω.
2. Επώαστε σε θερμοκρασία 90°C για 20 λεπτά και ύστερα εξισορροπήστε σε θερμοκρασία δωματίου προτού να συνεχίσετε.
3. Εφαρμόστε ετικέτα γραμμωτού κωδικού δοκιμίου σε ένα σωληνάριο δοκιμίου που είναι συμβατό με το σύστημα NeuMoDx System.
4. Τοποθετήστε το σωληνάριο με ετικέτα γραμμωτού κωδικού σε έναν φορέα σωληναρίων δοκιμίου και βεβαιωθείτε ότι έχετε αφαιρέσει το καπάκι πριν από τη φόρτωση στο σύστημα NeuMoDx System.
5. Προβείτε σε κλασματοποίηση του δοκιμίου σύμφωνα με τους όγκους που ορίζονται παρακάτω για τα δείγματα **SurePath**:
 - Φορέας σωληναρίων δοκιμίου (32 σωληναρίων): διάμετρος 11–14 mm και ύψος 60–120 mm, ελάχιστος όγκος πλήρωσης = 450 µL
 - Φορέας σωληναρίων δοκιμίου (24 σωληναρίων): διάμετρος 14,5–18 mm και ύψος 60–120 mm, ελάχιστος όγκος πλήρωσης = 800 µL
 - Φορέας σωληναρίων δοκιμίου χαμηλού όγκου (32 σωληναρίων): σωλήνας μικροφυγοκέντρησης με κωνικό πυθμένα και χωρητικότητα 1,5 mL, ο ελάχιστος όγκος πλήρωσης είναι = 300 µL

Λειτουργία συστήματος NeuMoDx System

Για αναλυτικές οδηγίες, ανατρέξτε στα Εγχειρίδια χρήσης των συστημάτων NeuMoDx 288 και 96 Molecular System (κωδ. είδους 40600108 και 40600317)

1. Φορτώστε την παραγγελία εξέτασης στο σύστημα NeuMoDx System, σύμφωνα με τον επιθυμητό τύπο δοκιμίου.
 - Τα δείγματα PreservCyt εξετάζονται με ορισμό του δοκιμίου ως «Cytology» (Κυτταρολογικό).
 - Τα προεπεξεργασμένα δείγματα SurePath εξετάζονται με ορισμό του δοκιμίου ως « UserSpecified1».

Εάν δεν προσδιορίζεται στην παραγγελία της εξέτασης, ο τύπος δοκιμίου PreservCyt θα χρησιμοποιηθεί ως προεπιλεγμένος τύπος.

2. Συμπληρώστε έναν ή περισσότερους φορείς δοκιμαστικών ταινιών NeuMoDx System με δοκιμαστική(ές) ταινία(ες) NeuMoDx HPV Test Strip και χρησιμοποιήστε την οθόνη αφής για να φορτώσετε τον(τους) φορέα(είς) δοκιμαστικών ταινιών στο σύστημα NeuMoDx System.
3. Εάν σας ζητηθεί από το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System, προσθέστε τα απαιτούμενα αναλώσιμα στους φορείς αναλωσίμων του συστήματος NeuMoDx System και χρησιμοποιήστε την οθόνη αφής για να φορτώσετε τον φορέα/τους φορείς στο σύστημα NeuMoDx System.
4. Εάν σας ζητηθεί από το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System, αντικαταστήστε τα NeuMoDx Wash Reagent και NeuMoDx Release Reagent και αδειάστε τα απόβλητα πλήρωσης, τον περιέκτη βιολογικά επικίνδυνων αποβλήτων (μόνο στο NeuMoDx 288 Molecular System), τον κάδο χρησιμοποιημένων ρυγχών (μόνο στο NeuMoDx 96 Molecular System) ή τον κάδο βιολογικά επικίνδυνων αποβλήτων (μόνο στο NeuMoDx 96 Molecular System), κατά περίπτωση.
5. Φορτώστε το σωληνάριο/τα σωληνάρια δοκιμίου σε έναν φορέα σωληναρίων δοκιμίου και διασφαλίστε ότι έχουν αφαιρεθεί τα καπάκια από όλα τα σωληνάρια.
6. Τοποθετήστε τον(τους) φορέα(είς) σωληναρίων δοκιμίου στο ράφι αυτόματης φόρτωσης και χρησιμοποιήστε την οθόνη αφής για να φορτώσετε τον(τους) φορέα(είς) στο σύστημα NeuMoDx System. Με αυτήν την ενέργεια, θα ξεκινήσει η επεξεργασία των δοκιμίων που έχουν φορτωθεί για τις προσδιορισμένες εξετάσεις, δεδομένου ότι υπάρχει μια έγκυρη παραγγελία εξέτασης στο σύστημα.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

1. Η ταινία NeuMoDx HPV Test Strip μπορεί να χρησιμοποιείται μόνο σε συστήματα NeuMoDx System.
2. Η απόδοση της ταινίας NeuMoDx HPV Test Strip έχει τεκμηριωθεί για χρήση με δείγματα που λαμβάνονται από τραχηλικά δοκίμια (υλικά απόξεσης) σε PreservCyt, SurePath ή ισοδύναμο κυτταρολογικό μέσο. Η χρήση της ταινίας NeuMoDx HPV Test Strip με άλλες πηγές δεν έχει αξιολογηθεί και τα χαρακτηριστικά απόδοσης είναι άγνωστα για άλλους τύπους δοκιμίου ή άλλα μέσα συλλογής.
3. Μόνο δοκίμια SurePath που έχουν υποβληθεί σε προεπεξεργασία με ρυθμιστικό διάλυμα Viral Lysis Buffer μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε συστήματα NeuMoDx Molecular Systems. Τα καθαρά δοκίμια μπορεί να οδηγήσουν σε μη έγκυρα ή μη βέλτιστα αποτελέσματα.
4. Καθώς η ανίχνευση του HPV εξαρτάται από την ποσότητα ιστού που υπάρχει στο δείγμα, η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων εξαρτάται από την ορθή συλλογή, τον ορθό χειρισμό και την ορθή φύλαξη των δοκιμίων.
5. Εσφαλμένα αποτελέσματα θα μπορούσαν να προκύψουν λόγω ακατάλληλης συλλογής, ακατάλληλου χειρισμού και ακατάλληλης φύλαξης δοκιμίων, τεχνικού σφάλματος ή μπερδέματος των σωληναρίων δοκιμίου. Επιπλέον, θα μπορούσαν να σημειωθούν ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα επειδή ο αριθμός των σωματιδίων του ιού στο δείγμα είναι χαμηλότερος από το όριο ανίχνευσης της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay.
6. Ο χειρισμός του συστήματος NeuMoDx System περιορίζεται στη χρήση από προσωπικό καταρτισμένο σχετικά με τη χρήση του συστήματος NeuMoDx System.
7. Αν δεν ενισχυθούν ούτε οι στόχοι HPV ούτε ο στόχος β-σφαιρίνης, θα αναφερθεί μη έγκυρο αποτέλεσμα [Indeterminate (Απροσδιόριστο), No Result (Χωρίς αποτέλεσμα) ή Unresolved (Χωρίς απάντηση)] και η εξέταση θα πρέπει να επαναληφθεί.
8. Ένα θετικό αποτέλεσμα δεν υποδεικνύει απαραίτητα την παρουσία βιώσιμου HPV. Ωστόσο, με ένα θετικό αποτέλεσμα πιθανολογείται ότι υπάρχει DNA του HPV.
9. Τυχόν απαλοιφές ή μεταλλάξεις στις συντηρημένες περιοχές τις οποίες στοχεύει η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay ενδέχεται να επηρεάσουν την ανίχνευση και θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε εσφαλμένο αποτέλεσμα.
10. Τα αποτελέσματα από τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay θα πρέπει να χρησιμοποιούνται ως συμπλήρωμα στις κλινικές παρατηρήσεις και σε άλλες πληροφορίες που είναι διαθέσιμες στον ιατρό.
11. Συνιστάται η χρήση ορθών εργαστηριακών πρακτικών, συμπεριλαμβανομένης της αλλαγής γαντιών για το χειρισμό διαφορετικών δοκιμίων ασθενών, με σκοπό την αποφυγή επιμόλυνσης.

ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Τα διαθέσιμα αποτελέσματα μπορούν να προβάλλονται ή να εκτυπώνονται από την καρτέλα «Results» (Αποτελέσματα) στο παράθυρο αποτελεσμάτων Results (Αποτελέσματα) στην οθόνη αφής του συστήματος NeuMoDx System. Τα αποτελέσματα της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay δημιουργούνται αυτόματα από το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System με χρήση του αλγόριθμου απόφασης και των παραμέτρων επεξεργασίας αποτελεσμάτων που προσδιορίζονται στο αρχείο ορισμού της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HPV (HPV ADF). Ένα αποτέλεσμα της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay μπορεί να αναφερθεί ως Negative (Αρνητικό), Positive (Θετικό), Indeterminate -IND- (Απροσδιόριστο), No Result -NR- (Χωρίς αποτέλεσμα) ή Unresolved -UNR- (Χωρίς απάντηση), βάσει της κατάστασης ενίσχυσης των στόχων και του μάρτυρα επεξεργασίας δείγματος. Τα αποτελέσματα αναφέρονται με βάση τον αλγόριθμο απόφασης του ADF ο οποίος συνοψίζεται στον Πίνακα 1 παρακάτω.

Τα κατώφλια Ct για κάθε στόχο καθιερώθηκαν και παρουσιάζονται στον Πίνακα 2 παρακάτω για να ευθυγραμμίζονται με την κλινική συνάφεια της μεθόδου προσδιορισμού. Μπορεί να υπάρχουν περιπτώσεις στις οποίες παρατηρείται καμπύλη ενίσχυσης στόχου αλλά το αναφερόμενο αποτέλεσμα είναι Negative (Αρνητικό). Αυτή η αναφορά συμφωνεί με τα κριτήρια επεξεργασίας αποτελεσμάτων και αποκοπής που έχουν επικυρωθεί από την NeuMoDx.

Τα αναφερόμενα αποτελέσματα της εξέτασης NeuMoDx HPV Test πρέπει να αξιολογηθούν από ιατρό στο πλαίσιο και άλλων ευρημάτων.

Πίνακας 1. Σύνοψη αλγορίθμου απόφασης για τη μέθοδο προσδιορισμού HPV

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ	HPV16	HPV18	Άλλοι HPV	ΜΑΡΤΥΡΑΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ (βG)
POSITIVE (ΘΕΤΙΚΟ)	AMPLIFIED (ΜΕ ΕΝΙΣΧΥΣΗ)	N/A [^] (Δ/Ε)	N/A [^] (Δ/Ε)	N/A [^] (Δ/Ε)
POSITIVE (ΘΕΤΙΚΟ)	N/A [^] (Δ/Ε)	AMPLIFIED (ΜΕ ΕΝΙΣΧΥΣΗ)	N/A [^] (Δ/Ε)	N/A [^] (Δ/Ε)
POSITIVE (ΘΕΤΙΚΟ)	N/A [^] (Δ/Ε)	N/A [^] (Δ/Ε)	AMPLIFIED (ΜΕ ΕΝΙΣΧΥΣΗ)	N/A [^] (Δ/Ε)
NEGATIVE (ΑΡΝΗΤΙΚΟ)	NOT AMPLIFIED (ΧΩΡΙΣ ΕΝΙΣΧΥΣΗ)	NOT AMPLIFIED (ΧΩΡΙΣ ΕΝΙΣΧΥΣΗ)	NOT AMPLIFIED (ΧΩΡΙΣ ΕΝΙΣΧΥΣΗ)	AMPLIFIED (ΜΕ ΕΝΙΣΧΥΣΗ)
IND (ΑΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΤΟ)	NOT AMPLIFIED, System Error Detected, Sample Processing Completed (Χωρίς ενίσχυση, Ανιχνεύτηκε σφάλμα συστήματος, Η επεξεργασία δειγμάτων ολοκληρώθηκε)			
IND/NR* (ΑΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΤΟ/ΧΩΡΙΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ)	NOT AMPLIFIED, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Χωρίς ενίσχυση, Ανιχνεύτηκε σφάλμα συστήματος, Η επεξεργασία δειγμάτων ματαιώθηκε)			
UNR (ΑΝΕΠΙΛΥΤΟ)	NOT AMPLIFIED, No System Errors Noted (ΔΕΝ ΥΠΑΡΧΕΙ ΕΝΙΣΧΥΣΗ, Δεν επισημαίνονται σφάλματα συστήματος)			

* Η επισήμανση No Result (Χωρίς αποτέλεσμα) αναφέρεται μόνο σε έκδοση λογισμικού του συστήματος NeuMoDx System 1.8 ή μεταγενέστερη.

[^] N/A (Δ/Ε) = Not Applicable (Δεν εφαρμόζεται)

Πίνακας 2. Τιμές αποκοπής Ct για θετικούς προσδιορισμούς

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ	HPV16	HPV18	Άλλοι HPV	ΜΑΡΤΥΡΑΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ (βG)
POSITIVE (ΘΕΤΙΚΟ)	33	33	30	N/A (Δ/Ε)*

* N/A (Δ/Ε) = Not Applicable (Δεν εφαρμόζεται)

Ποιοτικός έλεγχος

Οι κατά τόπους κανονισμοί ορίζουν συνήθως ότι το εργαστήριο είναι υπεύθυνο για τις διαδικασίες ελέγχου με τις οποίες παρακολουθούνται η ορθότητα και η ακρίβεια ολόκληρης της αναλυτικής διαδικασίας, καθώς και ότι το εργαστήριο πρέπει να καθορίζει τον αριθμό, τον τύπο και τη συχνότητα ελέγχου των υλικών μαρτύρων χρησιμοποιώντας επαληθευμένες προδιαγραφές απόδοσης για ένα μη τροποποιημένο, εγκεκριμένο σύστημα εξέτασης.

(Εξωτερικοί) μάρτυρες καθορισμένοι από τον χρήστη

- Οι κατάλληλοι καθορισμένοι από τον χρήστη μάρτυρες πρέπει να επιλεγούν και να επικυρωθούν από το εργαστήριο σύμφωνα με τις τοπικές κατευθυντήριες οδηγίες. Έχετε υπόψη ότι οι καθορισμένοι από τον χρήστη μάρτυρες πρέπει να πληρούν τις ίδιες προδιαγραφές ελάχιστου όγκου που ισχύουν για τα κλινικά δείγματα και καθορίστηκαν παραπάνω με βάση το μέγεθος του φορέα σωληναρίων δοκιμίου.
- Κατά την επεξεργασία μαρτύρων καθορισμένων από τον χρήστη, τοποθετήστε τους μάρτυρες με ετικέτα σε έναν φορέα σωληναρίων δοκιμίου και χρησιμοποιήστε την οθόνη αφής για να φορτώσετε τον φορέα στο σύστημα NeuMoDx System από το ράφι αυτόματης φόρτωσης. Μόλις καθοριστούν, το σύστημα NeuMoDx System θα αναγνωρίσει τους γραμμοτούς κωδικούς και θα αρχίσει την επεξεργασία των μαρτύρων.
- Συνιστάται οι χρήστες να υποβάλλουν σε επεξεργασία ένα σετ θετικών και αρνητικών μαρτύρων καθορισμένων από τον χρήστη κάθε 24 ώρες.
- Η αναφορά θετικού αποτελέσματος εξέτασης για ένα δείγμα αρνητικού μάρτυρα καθορισμένου από τον χρήστη μπορεί να υποδεικνύει πρόβλημα επιμόλυνσης του δοκιμίου. Για συμβουλές αντιμετώπισης προβλημάτων, ανατρέξτε στο *Εγχειρίδιο χρήσης του συστήματος NeuMoDx 288 ή 96 Molecular System*.
- Ένα αρνητικό αποτέλεσμα που αναφέρεται για ένα δείγμα θετικού μάρτυρα καθορισμένου από τον χρήστη μπορεί να υποδεικνύει ότι υπάρχει πρόβλημα που σχετίζεται με ένα αντιδραστήριο ή με το σύστημα NeuMoDx System. Για συμβουλές αντιμετώπισης προβλημάτων, ανατρέξτε στο *Εγχειρίδιο χρήσης του συστήματος NeuMoDx 288 ή 96 Molecular System*.

(Εσωτερικός) μάρτυρας επεξεργασίας δείγματος

Η β-σφαιρίνη (βG) χρησιμεύει ως ενδογενής εσωτερικός μάρτυρας καθώς υπάρχει στα τραχηλικά δείγματα απόξεσης που έχουν συλλεχθεί σωστά. Ο στόχος βG υποβάλλεται σε ολόκληρη τη διαδικασία εκχύλισης νουκλεϊκών οξέων και ενίσχυσης μέσω PCR πραγματικού χρόνου μαζί με κάθε δείγμα και επίσης λειτουργεί ως έλεγχος της ποιότητας του δείγματος. Εκκινητές και ανιχνευτές συγκεκριμένα για τη βG περιλαμβάνονται σε κάθε ταινία NeuMoDx HPV Test Strip μαζί με εκκινητές και ανιχνευτές για τους πολλαπλούς στόχους HPV, γεγονός που επιτρέπει την ανίχνευση της βG μαζί με το DNA του στόχου HPV (αν υπάρχει) μέσω PCR πολυπλεξίας. Η ανίχνευση της ενίσχυσης της βG επιτρέπει στο λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System να παρακολουθεί την αποτελεσματικότητα των διαδικασιών συλλογής δοκιμών, εκχύλισης DNA και ενίσχυσης PCR.

Μάρτυρες των συστημάτων NeuMoDx System

Το(α) σύστημα(ατα) NeuMoDx System εκτελούν διάφορους εσωτερικούς μάρτυρες στο όργανο και συγκεκριμένα τους εξής:

1. Πριν από την PCR, το NeuMoDx System εκτελεί αυτόματα ένα «FILL CHECK» (Έλεγχος πλήρωσης) για να διασφαλιστεί ότι το θάλαμος PCR είναι γεμάτος με διάλυμα και περιέχει επαρκή ποσότητα φθορίζοντος ανιχνευτή.
2. Το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System παρακολουθεί συνεχώς τους αισθητήρες και τους ενεργοποιητές επί του συστήματος για να διασφαλιστεί η ασφαλής και αποτελεσματική λειτουργία του συστήματος.
3. Εφαρμόζονται πολλαπλοί τρόποι αποκατάστασης τυχόν σφαλμάτων των υγρών μέσω της ενεργής παρακολούθησης των λειτουργιών αναρρόφησης και διανομής για να διασφαλιστεί ότι το σύστημα μπορεί είτε να ολοκληρώσει την επεξεργασία όλων των δειγμάτων με ασφαλή και αποτελεσματικό τρόπο είτε να παράσχει έναν κατάλληλο κωδικό σφάλματος.
4. Το σύστημα NeuMoDx System είναι εξοπλισμένο με δυνατότητα αυτόματου Reun (Επανεκτέλεση)/Repeat (Επανάληψη), την οποία ο τελικός χρήστης μπορεί να επιλέξει να χρησιμοποιήσει για να διασφαλίσει ότι ένα INVALID (ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ) αποτέλεσμα θα υποβάλλεται αυτόματα σε εκ νέου επεξεργασία, ώστε να ελαχιστοποιηθούν οι καθυστερήσεις στην αναφορά των αποτελεσμάτων.

Μη έγκυρα αποτελέσματα

Αν μια μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay που εκτελείται στο σύστημα NeuMoDx System δεν κατορθώσει να οδηγήσει σε έγκυρο αποτέλεσμα, αυτό θα αναφερθεί είτε ως Indeterminate -IND- (Απροσδιόριστο) είτε ως Unresolved -UNR- (Χωρίς απάντηση) είτε ως No Result -NR- (Χωρίς αποτέλεσμα) βάσει του τύπου του σφάλματος που σημειώνεται.

Αν ανιχνευτεί σφάλμα του συστήματος NeuMoDx System κατά την επεξεργασία του δείγματος, θα αναφερθεί αποτέλεσμα IND (Απροσδιόριστο). Σε περίπτωση που αναφερθεί αποτέλεσμα IND (Απροσδιόριστο), συνιστάται η επανεξέταση.

Αποτέλεσμα UNR (Χωρίς απάντηση) θα αναφέρεται αν δεν ανιχνευτεί έγκυρη ενίσχυση του DNA του HPV ή βG, γεγονός που υποδεικνύει πιθανή ατοχία του αντιδραστηρίου ή παρουσία αναστολέων. Αν αναφερθεί αποτέλεσμα UNR (Χωρίς απάντηση), ως πρώτο βήμα συνιστάται η επανεξέταση. Αν η επανεξέταση αποτύχει, μπορεί να χρησιμοποιηθεί μια αραιώση του δοκιμίου για μετρίασμό των επιδράσεων τυχόν αναστολής του δείγματος.

Αν η επεξεργασία του δείγματος ματαιωθεί λόγω σφάλματος συστήματος, θα αναφερθεί αποτέλεσμα NR (Χωρίς αποτέλεσμα). Αν αναφερθεί αποτέλεσμα NR (Χωρίς αποτέλεσμα), συνιστάται η επανεξέταση. Αυτή η επισήμανση αναφέρεται μόνο σε έκδοση λογισμικού NeuMoDx 1.8 ή μεταγενέστερη. Σε προγενέστερες εκδόσεις του λογισμικού, αυτό το σφάλμα αναφέρεται ως IND (Απροσδιόριστο).

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Αναλυτική ευαισθησία

Το όριο ανίχνευσης (Limit of Detection, LoD) προσδιορίστηκε με τη χρήση μιας σειράς διαδοχικών αραιώσεων τρεις φορές των gBlock (δίκλινα μπλοκ γονιδιωματικού DNA) που περιείχαν την περιοχή αμπλικονίου για κάθε στοχευόμενο τύπο του ιού HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67, 68) και για τη β-σφαιρίνη. Κάθε εξαμελής σειρά αραιώσεων παρασκευάστηκε σε υπόβαθρο 2.000 ng/mL ανθρώπινου DNA (εκτός για τη β-σφαιρίνη) και η συγκέντρωση εξετάστηκε σε αραιώση 45 φορές. Τα αποτελέσματα της μελέτης όπου το LoD προσδιορίστηκε με τη χρήση ανάλυσης λόγου ευστοχίας (hit-rate) 95% παρουσιάζονται στον Πίνακα 3 που ακολουθεί.

Πίνακας 3. Όριο ανίχνευσης (Limit of Detection, LoD) της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay 15 τύπων hrHPV και του γονιδίου της β-σφαιρίνης

Στόχος	Όριο ανίχνευσης (αντίγραφα/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-σφαιρίνη	74.074

Ειδικότητα ανάλυσης

Η ειδικότητα ανάλυσης της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay προσδιορίστηκε έναντι DNA γονιδιωμάτων μη στοχευόμενων HPV (Πίνακας 4) σε 1×10^6 αντίγραφα/mL και έναντι των δυνητικά παθογόνων μικροοργανισμών του κόλπου που παρουσιάζονται στον Πίνακα 5 σε 1×10^6 CFU/mL ή σε 1×10^5 PFU/mL. Η μέθοδος προσδιορισμού δεν έδειξε καμία διασταυρούμενη αντιδραστικότητα με τους μη στοχευόμενους τύπους HPV 6, 11, 26, 30, 34, 53, 69, 73, 82, 85 ή με τους μικροοργανισμούς. Θετικά αποτελέσματα «HPV Other» (Άλλοι HPV) παρατηρήθηκαν με τον HPV 70—πιθανά λόγω της υψηλής ομολογίας αλληλουχιών μεταξύ των τύπων 39, 68 και 70—και μια επακόλουθη μελέτη τιτλοποίησης υπέδειξε ότι η ανίχνευση αυτού του τύπου ήταν δυνατή σε $\geq 4,12 \times 10^6$ αντίγραφα/mL. Ο HPV 70 θεωρείται πιθανότατα καρκινογόνος βάσει επιδημιολογικών, φυλογενετικών και λειτουργικών μελετών.

Πίνακας 4. Μη στοχευόμενοι τύποι HPV που αξιολογήθηκαν για διασταυρούμενη αντιδραστικότητα

Γονότυποι μη στοχευόμενων HPV	
HPV 6	HPV 69
HPV 11	HPV 70
HPV 26	HPV 73
HPV 30	HPV 82
HPV 34	HPV 85
HPV 53	

Πίνακας 5. Μικροοργανισμοί που αξιολογήθηκαν για διασταυρούμενη αντιδραστικότητα

Μικροοργανισμός		
Αδενοϊός*	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	Ιός 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>	Ιός απλού έρπητα 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	Ιός απλού έρπητα 2	<i>Staphylococcus faecalis</i>
<i>Corynebacterium spp.</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Staphylococcus pyogenes</i>
Κυτταρομεγαλοϊός	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
<i>Treponema pallidum**</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	

* εξετάστηκε σε 1×10^5 (TCID₅₀)/mL

**εκτελέστηκε ανάλυση *in silico*

Αναλυτική αναπαραγωγικότητα

Η αναλυτική αναπαραγωγικότητα της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay αξιολογήθηκε με τη χρήση του ίδιου συνόλου δεδομένων που χρησιμοποιήθηκε στη μελέτη για το όριο ανίχνευσης. Τα δείγματα εξετάστηκαν σε 3X LoD σε 3 διαφορετικά συστήματα NeuMoDx Molecular System, 1 σύστημα N288 και 2 συστήματα N96, με τη χρήση 3 διαφορετικών παρτίδων δοκιμαστικών ταινιών NeuMoDx HPV Test Strip. Τα δεδομένα έδειξαν εξαιρετική αναπαραγωγικότητα συνολικά, με μέγιστη τιμή συντελεστή διακύμανσης (CV) της τάξης του 3,0% για καθέναν από τους γονότυπους που εξετάστηκαν όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 6. Επιπλέον, αυτό το σύνολο δεδομένων χρησιμοποιήθηκε για να καταδειχθεί η αναπαραγωγικότητα μεταξύ παρτίδων αντιδραστηρίων και μεταξύ συστημάτων όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 7.

Πίνακας 6. Γονότυποι hrHPV που εξετάστηκαν

Στόχος	Στοχευόμενη συγκέντρωση	Αντίγραφα/mL	Λόγος ευστοχίας	Συνολικός CV
Β-σφαιρίνη	3X LoD	222222	100% (45/45)	1,8%
HPV 16		24691	100% (44/44)	1,3%
HPV 18		8230	100% (45/45)	1,3%
HPV 31		74074	100% (45/45)	1,3%
HPV 33		222222	100% (45/45)	1,6%
HPV 35		222222	100% (45/45)	0,8%
HPV 39		222222	100% (45/45)	1,4%
HPV 45		222222	100% (45/45)	1,5%
HPV 51		222222	100% (45/45)	1,8%
HPV 52		666667	97,8% (44/45)	3,0%
HPV 56		222222	100% (45/45)	1,3%
HPV 58		666667	100% (44/44)	2,4%
HPV 59		666667	100% (45/45)	2,5%
HPV 66		222222	100% (45/45)	1,8%
HPV 67		222222	100% (45/45)	1,4%
HPV 68		2000000	100% (45/45)	2,9%

Πίνακας 7. Αναπαραγωγιμότητα μεταξύ παρτίδων και μεταξύ συστημάτων

Στόχος	CV μεταβλητότητας παρτίδας			CV διακύμανσης συστήματος		
	Παρτίδα 1	Παρτίδα 2	Παρτίδα 3	Σύστημα 1 (N96)	Σύστημα 2 (N288)	Σύστημα 3 (N96)
Β-σφαιρίνη	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%

Παρεμβαλλόμενες ουσίες

Τεχνητά δείγματα PreservCyt ενοφθαλμίστηκαν με ανασυνδυασμένο βακουλοϊό που ενσωματώνει περιοχές αμπλικονίου των HPV 16, 18, 51 και β-σφαιρίνης σε 1.000 αντίγραφα/mL, και με τις ουσίες που παρατίθενται στον Πίνακα 8. Κανένας από τους παράγοντες δεν είχε σημαντική ανασταλτική επίδραση στην απόδοση της μεθόδου προσδιορισμού.

Πίνακας 8. Δυνητικά παρεμβαλλόμενες ουσίες που εξετάστηκαν

	Ουσία	Συγκέντρωση
Ενδογενείς	Ολικό αίμα (ανθρώπινο)	1% (v/v)
	Λευκοκύτταρα	10 ⁶ κύτταρα/mL
	Βλεννίνη	1% (v/v)
Εξωγενείς	Ντους	1% (v/v)
	Αντιμυκητιασική κρέμα	1% (w/v)
	Σπερματοκτόνο	1% (w/v)
	Κολπικό λιπαντικό	1% (w/v)
	Γυναικείο σπρέι	1% (v/v)
	Αντισυλληπτικός αφρός	1% (w/v)

Σταθερότητα δείγματος επί του συστήματος

Μάρτυρας ανασυνδυασμένου βακουλοϊού που περιέχει τους στόχους των HPV 16, 18, 51 και της β-σφαιρίνης ενοφθαλμίστηκε σε ~3x LOD cp/mL σε μέσο συλλογής SurePath ή PreservCyt και υποβλήθηκε σε επεξεργασία με χρήση της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay. Μετά το τέλος της επεξεργασίας, όλα τα σωληνάρια θετικών και αρνητικών δοκιμών παρέμειναν στην τράπεζα εργασίας του συστήματος για 4, 8 και 24 ώρες και, στη συνέχεια, εξετάστηκαν ξανά. Το αναμενόμενο αποτέλεσμα σε όλα τα χρονικά σημεία ήταν POSITIVE (Θετικό) για όλα τα κυτταρολογικά δοκίμια που ενοφθαλμίστηκαν με στόχο και NEGATIVE (Αρνητικό) (για όλους τους στόχους) στα κυτταρολογικά δοκίμια που δεν ενοφθαλμίστηκαν με στόχο. Παρατηρήθηκε απόλυτη συμφωνία με το αναμενόμενο αποτέλεσμα στο χρονικό σημείο των 24 ωρών, γεγονός που αποδεικνύει ότι υπήρξε σταθερότητα διάρκειας 24 ωρών επί του συστήματος για την εξέταση με τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay. Τα αποτελέσματα συνοψίζει ο Πίνακας 9 παρακάτω. Τα δείγματα PreservCyt εμφάνισαν εξάτμιση έως 20% ενώ φυλάσσονταν επί του συστήματος για 24 ώρες η οποία δεν επηρέασε στην ανίχνευση στόχων στο εξεταζόμενο επίπεδο.

Πίνακας 9. Σύνοψη δεδομένων σταθερότητας δείγματος επί του συστήματος

Σταθερότητα δοκιμών επί του συστήματος	Στόχος	PreservCyt		SurePath	
		T ₀	24 ώρες	T ₀	24 ώρες
		% συμφωνίας	% συμφωνίας	% συμφωνίας	% συμφωνίας
Σετ θετικών	HPV 16	100%	100%	100%	100%
	HPV 18	100%	100%	100%	100%
	Άλλοι HPV	100%	100%	100%	100%
	β-σφαιρίνη	100%	100%	100%	100%
Σετ αρνητικών	Αρνητικός (β-σφαιρίνη μόνο)	100%	100%	100%	100%

Κλινική απόδοση-Μέσο συλλογής PreservCyt

Η κλινική ευαισθησία και ειδικότητα της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay για τραχηλική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία βαθμού 2 ή υψηλότερου (CIN2+) σε τραχηλικά δοκίμια που συλλέχθηκαν σε PreservCyt αξιολογήθηκε με μια ανάλυση μη κατωτερότητας σε σχέση με τη μέθοδο προσδιορισμού αναφοράς (δηλ. υψηλού κινδύνου HPV GP5+/6+-PCR-EIA) σύμφωνα με τις διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες για τις απαιτήσεις των εξετάσεων για HPV για τον προσυμπτωματικό έλεγχο του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.¹⁶ Με τη χρήση μελέτης της μορφής ασθενών-μαρτύρων, εξετάστηκαν 67 δείγματα από γυναίκες ηλικίας 30 ετών και άνω με ιστολογικά επιβεβαιωμένη CIN2+ (δηλ. ασθενείς Πίνακας 10). Για την κλινική ειδικότητα εξετάστηκαν 823 δείγματα κυτταρολογίας υγρής φάσης που συλλέχθηκαν διαδοχικά από τον πληθυσμό προσυμπτωματικού ελέγχου που περιλάμβανε γυναίκες με φυσιολογική κυτταρολογική εικόνα και χωρίς ενδείξεις CIN2+ εντός 2 ετών επανεξέτασης (δηλ. μάρτυρες). Το συνολικό ποσοστό επιτυχίας με τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay ήταν 99,4% (818/823), όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 11. Η κλινική ευαισθησία της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HPV για την CIN2+ ήταν 92,5% (62/67, 95%CI 83,3–96,9) και η κλινική ειδικότητα για την CIN2+ ήταν 95,6% (782/818, 95%CI 92,2–97,6), αμφότερες μη κατώτερες από αυτές της μεθόδου προσδιορισμού αναφοράς GP5+/6+-PCR-EIA ($P = 0,02$ και $P < 0,0001$, αντίστοιχα).

Πίνακας 10. Αποτελέσματα κλινικής ευαισθησίας δειγμάτων από γυναίκες ηλικίας 30+ ετών με επιβεβαιωμένη CIN2+

Εξέταση αναφοράς	NeuMoDx HPV Assay		
	POS (Θετικό)	NEG (Αρνητικό)	ΣΥΝΟΛΟ
POS (Θετικό)	61	2	63
NEG (Αρνητικό)	1	3	4
ΣΥΝΟΛΟ	62	5	67
Κλινική ευαισθησία NeuMoDx HPV Assay: 92,5% (95%ΔΕ 83,3–96,9)			

Πίνακας 11. Αποτελέσματα κλινικής ειδικότητας δειγμάτων από γυναίκες με φυσιολογική κυτταρολογική εικόνα και χωρίς επιβεβαιωμένη CIN2+

Εξέταση αναφοράς	NeuMoDx HPV Assay		
	POS (Θετικό)	NEG (Αρνητικό)	ΣΥΝΟΛΟ
POS (Θετικό)	28	19	47
NEG (Αρνητικό)	8	763	771
ΣΥΝΟΛΟ	36	782	818
Κλινική ειδικότητα NeuMoDx HPV Assay: 95,6% (95%ΔΕ 92,2–97,6)			

Για γυναίκες ηλικίας κάτω των 30 ετών, εξετάστηκαν 173 δείγματα κυτταρολογίας υγρής φάσης από γυναίκες που προσήλθαν σε εξωτερικά ιατρεία. Το ποσοστό επιτυχίας με τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay ήταν 98,3% (170/173) (Πίνακας 12). Η ευαισθησία της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay για την CIN3+ ήταν 91,1% (41/45, 95% ΔΕ 78,6-96,6) και η ειδικότητα για την CIN3+ ήταν 51,2% (64/125, 95%ΔΕ 42,5-60,0). Οι σχετικές τιμές ευαισθησίας και ειδικότητας συγκριτικά με την εξέταση QIAScreen HPV PCR Test ήταν 1,03 και 1,10, αντίστοιχα.

Πίνακας 12. Απόδοση της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay σε γυναίκες ηλικίας <30 ετών διαστρωματωμένες ανάλογα με τον ιστολογικό τύπο και την εξέταση QIAScreen HPV PCR Test

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

Για γυναίκες με ASC-US ή LSIL, η κλινική ευαισθησία για την CIN2+ ήταν 91,7% (11/12, 95%ΔΕ 58,7–98,8) και η κλινική ειδικότητα για την CIN2+ ήταν 75,0% (15/20, 95%ΔΕ 52,2–89,2) (Πίνακας 13).

Πίνακας 13. Απόδοση της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay σε γυναίκες με κυτταρολογική εικόνα ASC-US/LSIL διαστρωματωμένες ανάλογα με τον ιστολογικό τύπο και το αποτέλεσμα της εξέτασης αναφοράς

Ιστολογικός τύπος	Μέθοδος προσδιορισμού αναφοράς	NeuMoDx HPV Assay		
		NEG (Αρνητικό)	POS (Θετικό)	ΣΥΝΟΛΟ
<=CIN1	NEG (Αρνητικό)	13	-	13
	POS (Θετικό)	2	5	7
	ΣΥΝΟΛΟ	15	5	20
CIN2	NEG (Αρνητικό)	-	-	-
	POS (Θετικό)	-	6	6
	ΣΥΝΟΛΟ	-	6	6
CIN3+	NEG (Αρνητικό)	1	-	1
	POS (Θετικό)	-	5	5
	ΣΥΝΟΛΟ	1	5	6
ΣΥΝΟΛΙΚΑ	NEG (Αρνητικό)	14	-	14
	POS (Θετικό)	2	16	18
	ΣΥΝΟΛΟ	16	16	32

Κλινική απόδοση-Μέσο συλλογής SurePath

Η κλινική ευαισθησία και ειδικότητα της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay για την ανίχνευση CIN2+ προσδιορίστηκε με χρήση 948 δοκιμών τραχηλικών δειγμάτων απόξεσης που συλλέχθηκαν σε μέσο συλλογής SurePath και σχεδιασμό μελέτης της μορφής ασθενών-μαρτύρων. Η σχετική ευαισθησία και ειδικότητα για CIN2+ της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay σε σύγκριση με μια κλινικά επικυρωμένη μέθοδο προσδιορισμού αναφοράς (δηλ. μια μέθοδο προσδιορισμού κινδύνου HPV) προσδιορίστηκε βασισμένη στη στατιστική μέθοδο «εξέτασης βαθμολογίας μη κατωτερότητας».

Η κλινική ευαισθησία προσδιορίστηκε με χρήση 106 δειγμάτων από γυναίκες οι οποίες είχαν διαγνωστεί με ιστολογικά επιβεβαιωμένη CIN2+ (δηλ. ασθενείς). Ο μέσος όρος ηλικίας των γυναικών ήταν τα 38 έτη (εύρος 30–58). Η ευαισθησία της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay προσδιορίστηκε ότι ήταν 92,5% (98/106, ΔΕ 95%: 85,6–96,2) και ίση με εκείνη της μεθόδου προσδιορισμού αναφοράς κινδύνου HPV (Πίνακας 14). Η σχετική ευαισθησία της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay σε σύγκριση με τη μέθοδο προσδιορισμού κινδύνου HPV ήταν 1,00 με τιμή εξέτασης βαθμολογίας μη κατωτερότητας P=0,0009.

Η κλινική ειδικότητα προσδιορίστηκε με βάση 842 δείγματα κυτταρολογίας υγρής φάσης (SurePath) που συλλέχθηκαν από τον πληθυσμό προσυμπτωματικού ελέγχου που περιλάμβανε γυναίκες με φυσιολογική κυτταρολογική εικόνα και χωρίς ενδείξεις CIN2+ εντός 2 ετών επανεξέτασης. Ο μέσος όρος ηλικίας των γυναικών ήταν τα 43 έτη (εύρος 30–59) και 98,6% (935/948) των δειγμάτων ήταν έγκυρα. Η ειδικότητα της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay ήταν 93,5% (775/829, ΔΕ 95%: 91,6–95,0) και εκείνη της μεθόδου προσδιορισμού αναφοράς κινδύνου HPV ήταν 91,9% (762/829, ΔΕ 95%: 89,9–93,6) (Πίνακας 15). Η σχετική ειδικότητα της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay σε σύγκριση με τη μέθοδο προσδιορισμού κινδύνου HPV ήταν 1,02 με τιμή εξέτασης βαθμολογίας μη κατωτερότητας P<0,0001.

Πίνακας 14. Αποτελέσματα κλινικής ευαισθησίας δειγμάτων από γυναίκες με επιβεβαιωμένη CIN2+ σε μέσο συλλογής SurePath

Εξέταση αναφοράς	NeuMoDx HPV Assay		
	POS (Θετικό)	NEG (Αρνητικό)	ΣΥΝΟΛΟ
POS (Θετικό)	97	1	98
NEG (Αρνητικό)	1	7	8
ΣΥΝΟΛΟ	98	8	106
Κλινική ευαισθησία NeuMoDx HPV Assay: 92,5% (95%ΔΕ 85,6–96,2)			

Πίνακας 15. Αποτελέσματα κλινικής ειδικότητας δειγμάτων από γυναίκες με φυσιολογική κυτταρολογική εικόνα και χωρίς επιβεβαιωμένη CIN2+ σε μέσο συλλογής SurePath

Εξέταση αναφοράς	NeuMoDx HPV Assay		
	POS (Θετικό)	NEG (Αρνητικό)	ΣΥΝΟΛΟ
POS (Θετικό)	48	6	54
NEG (Αρνητικό)	19	756	775
ΣΥΝΟΛΟ	67	775	842
Κλινική ειδικότητα NeuMoDx HPV Assay: 93,5% (95%ΔΕ 91,6–95,0)			

Κλινική αναπαραγωγικότητα

Η αναπαραγωγικότητα εντός εργαστηρίου και η συμφωνία μεταξύ εργαστηρίων της εξέτασης σε κλινικά δοκίμια που συλλέχθηκαν σε PreservCyt αξιολογήθηκαν σύμφωνα με τις διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες για τις απαιτήσεις των εξετάσεων για HPV για τον προσυμπτωματικό έλεγχο του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.¹⁶ Η αναπαραγωγικότητα εντός εργαστηρίου σε τραχηλικά δοκίμια στη διάρκεια της μελέτης ήταν 96,0% (484/504, 95%CI 94,3–97,4) με τιμή κάππα (κ) ίση με 0,90 (Πίνακας 16). Τα αποτελέσματα αυτών των στιγμιότυπων εξέτασης αξιολογήθηκαν στη συνέχεια για συμφωνία με αυτά ενός άλλου κέντρου εξέτασης, παρέχοντας συμφωνίες μεταξύ εργαστηρίων της τάξης των 96,4% (486/504, 95%ΔΕ 94,8–97,7) με τιμή κ=0,91 και 94,4% (476/504, 95%ΔΕ 92,5–96,1) με τιμή κ=0,86 με το πρώτο και το δεύτερο στιγμιότυπο εξέτασης, αντίστοιχα (Πίνακας 17).

Πίνακας 16. Αναπαραγωγικότητα εντός εργαστηρίου της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay συναρτήσει του χρόνου

Αποτέλεσμα εξέτασης NeuMoDx HPV Assay 1	Αποτέλεσμα εξέτασης NeuMoDx HPV Assay 2		
	NEG (Αρνητικό)	POS (Θετικό)	ΣΥΝΟΛΟ
NEG (Αρνητικό)	347	13	360
POS (Θετικό)	7	137	144
ΣΥΝΟΛΟ	354	150	504
Αναπαραγωγικότητα = 96,0% (95%ΔΕ 94,3–97,4), κ=0,90			

Πίνακας 17. Συμφωνία μεταξύ εργαστηρίων της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HPV Assay

Εξωτερική εξέταση NeuMoDx HPV Assay	NeuMoDx HPV Assay – Αποτέλεσμα εσωτερικής εξέτασης 1			NeuMoDx HPV Assay – Αποτέλεσμα εσωτερικής εξέτασης 2		
	NEG (Αρνητικό)	POS (Θετικό)	ΣΥΝΟΛΟ	NEG (Αρνητικό)	POS (Θετικό)	ΣΥΝΟΛΟ
NEG (Αρνητικό)	355	13	368	347	21	368
POS (Θετικό)	5	131	136	7	129	136
ΣΥΝΟΛΟ	360	144	504	354	150	504
	Συμφωνία 96,4% (95%ΔΕ 94,8–97,7), κ=0,91			Συμφωνία 94,4% (95%ΔΕ 92,5–96,1), κ=0,86		

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

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.

ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΣΗΜΑΤΑ

Οι ονομασίες NeuMoDx™ και NeuDry™ είναι εμπορικά σήματα της NeuMoDx Molecular, Inc.















Η ονομασία Hamilton® είναι σήμα κατατεθέν της Hamilton Company.

Η ονομασία PreservCyt® είναι σήμα κατατεθέν της Hologic, Inc.

Η ονομασία SurePath™ είναι εμπορικό σήμα της Becton Dickinson (BD).

Όλες οι υπόλοιπες ονομασίες προϊόντων, τα εμπορικά σήματα και τα κατατεθέντα εμπορικά σήματα που μπορεί να αναφέρονται στο παρόν έγγραφο αποτελούν ιδιοκτησία των αντίστοιχων κατόχων τους.

ΥΠΟΜΝΗΜΑ ΣΥΜΒΟΛΩΝ

 Χρήση μόνο με ιατρική συνταγή	 Περιορισμός θερμοκρασίας
 Κατασκευαστής	 Να μην επαναχρησιμοποιείται
 <i>In vitro</i> διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν	 Περιέχει επαρκή ποσότητα για <n> εξετάσεις
 Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα	 Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
 Αριθμός καταλόγου	 Προσοχή
 Κωδικός παρτίδας	 Βιολογικοί κίνδυνοι
 Ημερομηνία λήξης	 Σήμανση CE



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

Χορηγός (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



Τεχνική υποστήριξη/Υποβολή αναφορών επαγρύπνησης:
support@qiagen.com

Δίπλωμα ευρεσιτεχνίας: www.neumodx.com/patents