

REF 617007 NeuMoDx™ HPV Test Strip
R only

PRECAUCIÓN: Para exportaciones de EE. UU. exclusivamente

IVD Para uso diagnóstico *in vitro* con el NeuMoDx 288 y el NeuMoDx 96 Molecular System

 Puede acceder a la versión electrónica en www.qiagen.com/neumodx-ifu

Para obtener instrucciones detalladas, consulte el Manual del operador del NeuMoDx 288 Molecular System; ref. 40600108

Para obtener instrucciones detalladas, consulte el Manual del operador del NeuMoDx 96 Molecular System; ref. 40600317

USO PREVISTO

El ensayo NeuMoDx HPV Assay, tal como se utiliza en el NeuMoDx 96 Molecular System y el NeuMoDx 288 Molecular System (NeuMoDx Systems), es un ensayo rápido y automatizado de amplificación de ácidos nucleicos de diagnóstico *in vitro* basado en RCP inmediata para la detección cualitativa de tipos de ADN del virus del papiloma humano (HPV) de alto riesgo en muestras cervicouterinas. La prueba identifica específicamente el VPH 16 y el VPH 18, a la vez que detecta simultáneamente los otros tipos que son de alto riesgo (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 y 68) en niveles de infección clínicamente pertinentes. Las muestras cervicouterinas que se pueden analizar con el NeuMoDx HPV Assay incluyen muestras cervicouterinas recogidas por el médico mediante un dispositivo de recogida tipo cepillo/escoba y conservadas en citología con base líquida de PreservCyt® (Hologic) y SurePath™ (BD). El uso previsto del ensayo es como prueba primaria en la detección del riesgo de (pre)cáncer cervicouterino en mujeres a partir de 21 años para determinar la necesidad de remitirlas a una colposcopia o a otros procedimientos de seguimiento, y como prueba de seguimiento para mujeres con resultados de la prueba de Papanicoláu con células escamosas atípicas de significado incierto (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) o con lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (Low-grade Squamous Intra-epithelial Lesion, LSIL) para determinar la necesidad de remitir las pacientes a colposcopia o a otros procedimientos de seguimiento. Esta información, junto con la evaluación del médico de los antecedentes, la citología, otros factores de riesgo y las recomendaciones profesionales, pueden usarse para orientar el tratamiento de la paciente.

Este producto se ha diseñado para que lo usen usuarios profesionales, como técnicos y personal de laboratorio formados en procedimientos de diagnóstico *in vitro* y en técnicas de biología molecular.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El cáncer de cuello uterino y sus lesiones precursoras, la neoplasia intraepitelial cervicouterina (Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN), son causados por una infección persistente con un tipo de alto riesgo del virus del papiloma humano (VPH).¹⁻³ El VPH pertenece a la familia de Papillomaviridae y son pequeños virus con ADN bicatenario. El genoma circular tiene un tamaño de aproximadamente 7,9 kilobases. Se han identificado más de 100 tipos de VPH, de los cuales ciertos tipos conocidos como VPH de alto riesgo (high-risk HPV, hrHPV), como el VPH 16 y 18, se asocian con la inducción de lesiones en la mucosa que pueden evolucionar a cáncer. El genoma vírico contiene genes de expresión temprana (Early, E) y de expresión tardía (Late, L), que codifican proteínas necesarias para las fases tempranas y tardías del ciclo vital del VPH, respectivamente. Los productos génicos E6 y E7 de los tipos de VPH de alto riesgo tienen propiedades cancerígenas y son necesarios para la transformación neoplásica de las células anfitrionas.⁴ A menudo, la evolución neoplásica se asocia con la integración vírica en el genoma de las células anfitrionas.⁵ La integración tiene como consecuencia la interrupción del genoma vírico en una región que puede extenderse del marco de lectura abierto de E1 a L1.⁶ Todo ello puede tener consecuencias en la amplificación mediada por RCP del ADN vírico en estas regiones. Como no solo el inicio, sino también el mantenimiento del fenotipo transformado, depende de la expresión continua de las oncoproteínas víricas, la región vírica E6/E7 se conserva invariablemente en los genomas víricos integrados en los cánceres cervicouterinos.^{6,7,8}

El cáncer cervicouterino es una complicación poco frecuente de una infección por VPH; se calcula que el riesgo durante toda la vida de una infección por VPH de alto riesgo (high-risk HPV, hrHPV) es de un 80 % y que el sistema inmunitario anfitrión elimina la gran mayoría de las infecciones sin que den lugar a lesiones.⁹ Tras la eliminación de la infección por VPH, las lesiones de neoplasias intraepiteliales cervicouterinas (Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN) suelen retroceder.¹⁰

Las pruebas para el ADN del VPH proporcionan una mejor protección contra el cáncer cervicouterino y sus lesiones precursoras de neoplasias intraepiteliales cervicouterinas (Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN) en comparación con el análisis citomorfológico (p. ej., prueba de Papanicoláu) en muestras cervicouterinas en detección primaria en mujeres a partir de 30 años y en el triaje de mujeres a partir de 21 años con citología cervicouterina ASC-US o LSIL.¹¹⁻¹⁵ La detección cervicouterina basada en VPH primaria se aplica en diversos países de todo el mundo; se han publicado las pautas internacionales para los requisitos de la prueba de ADN del VPH para detección de cáncer cervicouterino primario.¹⁶ El NeuMoDx HPV Assay se centra en una región conservada dentro del gen E7 del genoma del VPH, con lo que se superan posibles resultados falsos-negativos tras la integración vírica en el genoma anfitrión.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El NeuMoDx HPV Assay combina la extracción automatizada de ADN, la amplificación y la detección mediante RCP inmediata. Las muestras cervicouterinas se recogen en una solución citológica líquida y, a continuación, se transfieren a un tubo de muestras secundario compatible etiquetado con código de barras que se coloca en el NeuMoDx System. El NeuMoDx System aspira automáticamente una alícuota de la muestra para mezclarla con el NeuMoDx Lysis Buffer 2 y los agentes que contiene la NeuMoDx Extraction Plate para empezar el procesamiento. El NeuMoDx System automatiza e integra la extracción y concentración del ADN, la preparación de reactivos y la amplificación y detección de ácidos nucleicos de la secuencias del analito con RCP inmediata. El ADN de la β -globina (β G), que está presente en todas las muestras recogidas apropiadamente, sirve como control del proceso de muestras endógenas y ayuda a supervisar la presencia de sustancias inhibitorias y de fallos del sistema, el proceso o los reactivos. No es necesaria la intervención del operador una vez que la muestra y los consumibles necesarios se cargan en el NeuMoDx System.

El NeuMoDx System lleva a cabo automáticamente la lisis, la extracción de ADN y la supresión de inhibidores. Las partículas paramagnéticas capturan los ácidos nucleicos liberados. Las partículas, con ácido nucleico unido, se cargan en el NeuMoDx Cartridge donde los elementos no unidos se eliminan con el NeuMoDx Wash Reagent. A continuación, el ADN unido se eluye utilizando el NeuMoDx Release Reagent. El NeuMoDx System utiliza el ADN eluido para rehidratar los reactivos de amplificación NeuDry™ patentados que contienen todos los componentes necesarios para 40 ciclos de amplificación de las 15 dianas del VPH (si se presentan), así como de la diana de la β-globina. Esto permite la amplificación y la detección simultáneas de la diana como de las secuencias de ADN de control. Tras la reconstitución de los reactivos secos para la RCP, el NeuMoDx System dispensa la mezcla preparada para la RCP en una cámara de RCP (por muestra) del NeuMoDx Cartridge. La amplificación y la detección de las secuencias de control y diana (si están presentes) tienen lugar en la cámara de RCP. El NeuMoDx Cartridge está diseñado para contener el amplicón tras la RCP, eliminando prácticamente el riesgo de contaminación después de la amplificación.

Los analitos amplificados se detectan en tiempo real utilizando productos químicos de sonda de hidrólisis (frecuentemente denominados productos químicos TaqMan®) mediante moléculas de sonda de oligonucleótidos fluorógenos específicas de los amplicones para sus respectivos analitos. Las sondas TaqMan constan de un fluorocromo unido covalentemente al extremo 5' de la sonda de oligonucleótidos y un supresor de la señal en el extremo 3'. Mientras la sonda está intacta, el fluorocromo y el supresor de la señal están cerca, permitiendo que la molécula supresora de la señal extinga la fluorescencia que emite el fluorocromo mediante la transferencia de energía de resonancia de Förster (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Las sondas TaqMan están diseñadas para hibridarse en una región de ADN amplificada por un conjunto específico de cebadores. A medida que la polimerasa de ADN Taq extiende el cebador y sintetiza la nueva hebra, la actividad de la exonucleasa 5' a 3' de la polimerasa de ADN Taq degrada la sonda que se ha hibridado con la plantilla. La degradación de la sonda libera el fluorocromo y rompe su proximidad con el supresor de la señal, por lo que se vence el efecto supresor debido a la FRET y se permite la detección del fluorocromo. La señal fluorescente resultante detectada en el termociclador de RCP del NeuMoDx System es directamente proporcional al fluorocromo liberado y se puede correlacionar con la cantidad de analito presente.

Se usa una sonda TaqMan etiquetada con un fluorocromo en el extremo 5' y un supresor de la señal oscuro en el extremo 3' para detectar el VPH 16 (470/510 nm), el VPH 18 (625/660 nm) y los tipos de alto riesgo (High-Risk, HR) clínicamente significativos restantes ("HPV Other" [Otros VPH]; 530/555 nm). Para la detección de la β-globina, la sonda TaqMan se etiqueta con un colorante fluorescente alternativo (585/610 nm) en el extremo 5' y un supresor de la señal oscuro en el extremo 3'. El software del NeuMoDx System supervisa la señal fluorescente que emiten las sondas TaqMan al final de cada ciclo de amplificación. Una vez finalizada la amplificación, el software del NeuMoDx System analiza los datos y genera un informe del resultado (POSITIVE [Positivo], NEGATIVE [Negativo], INDETERMINATE [Indeterminado], UNRESOLVED [No resuelto], NO RESULT [Sin resultado]).

REACTIVOS/CONSUMIBLES

Materiales suministrados

REF	Contenido	Unidades por paquete	Pruebas por unidad	Pruebas por paquete
617007	NeuMoDx HPV Test Strip <i>Reactivos secos para RCP que contienen cebadores y sondas TaqMan® específicos para VPH y βG</i>	6	16	96

Materiales necesarios pero no suministrados (disponibles por separado en NeuMoDx)

REF	Contenido
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Partículas secas paramagnéticas, enzima lítica y control de β-globina</i>
400500	NeuMoDx Lysis Buffer 2
401600	NeuMoDx Viral Lysis Buffer*
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Puntas Hamilton® CO-RE/CO-RE II (300 µl) con filtros
235905	Puntas Hamilton CO-RE/CO-RE II (1000 µl) con filtros

* Se requiere para el procesamiento de muestras de SurePath pretratadas

Instrumentos necesarios

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

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- La NeuMoDx HPV Test Strip es para uso diagnóstico *in vitro* con los NeuMoDx Systems solamente.
- No utilice los reactivos o consumibles después de la fecha de caducidad indicada.

- No utilice los reactivos si el sello de seguridad está roto o si el embalaje está dañado en el momento de su recepción.
- No utilice consumibles o reactivos si la bolsa protectora está abierta o rota en el momento de su recepción.
- El volumen mínimo de la muestra de las alícuotas secundarias depende del tamaño del tubo o del soporte del tubo de muestras, tal y como se define a continuación. Un volumen por debajo del valor mínimo especificado podría dar lugar al error "Quantity Not Sufficient" (Cantidad insuficiente).
- El uso de muestras almacenadas a temperaturas inadecuadas o más allá de los tiempos de almacenamiento especificados puede producir resultados erróneos o no válidos.
- Solo se pueden usar las muestras de SurePath pretratadas con el tampón Viral Lysis Buffer en los NeuMoDx Molecular Systems. Las muestras puras pueden generar resultados no válidos o inferiores al nivel óptimo.
- Se observó hasta el 20 % de evaporación de la muestra en estudios de validación realizados para evaluar la estabilidad de la muestra en el sistema debido a la alta volatilidad del medio de recogida PreservCyt. No se espera que ello afecte negativamente a los resultados de la muestra, pero debe tenerse en consideración cuando se preparan las muestras para procesamientos retrasados. No se observó evaporación significativa en las muestras de SurePath pretratadas.
- Evite la contaminación de todos los reactivos y consumibles con microbios y desoxirribonucleasa (DNasa). Se recomienda el uso de pipetas de transferencia estériles sin desoxirribonucleasa y desechables cuando se utilizan tubos secundarios. Utilice una pipeta nueva para cada muestra.
- Para evitar la contaminación, no manipule ni separe los NeuMoDx Cartridge después de la amplificación. No recupere los NeuMoDx Cartridges del contenedor para desechos con riesgo biológico (NeuMoDx 288 Molecular System) ni del recipiente para desechos con riesgo biológico (NeuMoDx 96 Molecular System) bajo ninguna circunstancia. El NeuMoDx Cartridge está diseñado para evitar la contaminación.
- En caso de que el laboratorio también realice pruebas de la RCP con el tubo abierto, debe prestarse atención para garantizar que la NeuMoDx HPV Test Strip, los consumibles y reactivos adicionales necesarios para las pruebas, el equipo de protección individual como los guantes y las batas de laboratorio y el NeuMoDx System no estén contaminados.
- Se deben llevar guantes limpios de nitrilo sin talco al manipular los reactivos y consumibles NeuMoDx. Se debe tener cuidado de no tocar la superficie superior del NeuMoDx Cartridge, la superficie del sello metálico de la NeuMoDx HPV Test Strip ni de la NeuMoDx Extraction Plate, o la superficie superior del NeuMoDx Lysis Buffer 2; para manipular los consumibles y los reactivos, solo se deben tocar las superficies laterales.
- Se proporcionan las fichas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) de cada reactivo (según proceda) en www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Lavarse bien las manos después de realizar la prueba.
- No pipetear con la boca. No fumar, beber ni comer en zonas en las que se estén manipulando las muestras o los reactivos.
- Manipule siempre las muestras como material infeccioso y de acuerdo con los procedimientos seguros de laboratorio como los descritos en *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁷ (Seguridad biológica en laboratorios microbiológicos y biomédicos) y en el documento M29-A4 del CLSI.¹⁸
- Eliminar los reactivos no utilizados y los desechos de conformidad con la normativa nacional, provincial, regional y local.
- No reutilizar.

ALMACENAMIENTO, MANIPULACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS PRODUCTOS

- Las NeuMoDx HPV Test Strips permanecen estables en el embalaje primario hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta externa del producto cuando se almacenan a una temperatura de 15 a 23 °C.
- No vuelva a cargar ningún producto para pruebas que se haya cargado previamente en *otro* NeuMoDx System.
- Una vez cargada, la NeuMoDx HPV Test Strip puede permanecer en el NeuMoDx System durante 14 días. La vida útil restante de las tiras reactivas cargadas la controla el software, que informa al usuario en tiempo real. La retirada de una tira reactiva que se ha utilizado más tiempo del permitido la solicitará el sistema.

RECOGIDA, MANIPULACIÓN, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS

1. El NeuMoDx HPV Assay está diseñado para usarse con muestras obtenidas del cuello uterino. Los medios de recogida validados para muestras cervicouterinas son PreservCyt y SurePath. Siga las instrucciones de preparación y almacenamiento indicadas por el fabricante del dispositivo de recogida de muestras.
2. Las muestras de SurePath se deben pretratar antes de usarse según se indica en las instrucciones específicas que aparecen a continuación.
3. **Las muestras refrigeradas se deben equilibrar a temperatura ambiente durante al menos 30 minutos antes de procesarlas para obtener un rendimiento adecuado del sistema.**
4. Las muestras cervicouterinas preparadas pueden almacenarse en el NeuMoDx System hasta 24 horas antes del procesamiento. Si es necesario ampliar el tiempo de almacenamiento, se recomienda almacenarlas con las condiciones siguientes:

Muestras cervicouterinas en **PreservCyt**:

- a. Hasta 6 semanas después del muestreo cuando se almacenan a una temperatura de entre 15 y 25 °C
- b. Hasta 3 meses después del muestreo cuando se almacenan a una temperatura de entre 2 y 8 °C
- c. Hasta 8 años si se almacenan a -80 °C. Si las muestras se congelan, deje que se descongelen a temperatura ambiente (15-30 °C) y agítelas con el vórtex para generar una muestra distribuida uniformemente.

Muestras cervicouterinas en SurePath:

- a. Hasta 30 días después del muestreo cuando se almacenan a una temperatura de entre 2 y 30 °C
 - b. Hasta 180 días después del muestreo cuando se almacenan a una temperatura de entre 2 y 8 °C
 - c. Hasta 180 días si se almacenan a –20 °C. Si las muestras se congelan, deje que se descongelen completamente a temperatura ambiente (15-30 °C) y agítelas con el vórtex para generar una muestra distribuida uniformemente.
5. Si las muestras se van a transportar, deben empaquetarse y etiquetarse de conformidad con las normativas nacionales y/o internacionales que correspondan.
 6. Etiquete claramente las muestras e indique que son para análisis del VPH.

INSTRUCCIONES DE USO

Preparación de las pruebas: PRESERVICYT

1. Aplique la etiqueta de código de barras de muestra a un tubo de muestras compatible con el NeuMoDx System.
2. Coloque el tubo etiquetado con el código de barras en un soporte de tubos de muestras y asegúrese de que se quite el tapón antes de cargarlo en el NeuMoDx System.
3. Distribuya en partes alícuotas la muestra de acuerdo con los volúmenes definidos a continuación para muestras de **PreservCyt**:
 - Soporte de tubos de muestras (32 tubos): 11-14 mm de diámetro y 60-120 mm de altura; volumen de llenado mínimo = 400 µl
 - Soporte de tubos de muestras (24 tubos): 14,5-18 mm de diámetro y 60-120 mm de altura; volumen de llenado mínimo = 850 µl
 - Soporte de tubos de muestras de volumen bajo (32 tubos): Tubo de microcentrífuga de fondo cónico de 1,5 ml; volumen de llenado mínimo = 250 µl

Preparación de las pruebas: SUREPATH

1. Pretrate la muestra de SurePath con un volumen de proporción 1:1 del tampón NeuMoDx Viral Lysis Buffer y mezcle cuidadosamente. Use el volumen adecuado para cumplir con el volumen mínimo de la muestra definido a continuación.
2. Incube a 90 °C durante 20 minutos y, a continuación, realice un equilibrado a temperatura ambiente antes de continuar.
3. Aplique la etiqueta de código de barras de muestra a un tubo de muestras compatible con el NeuMoDx System.
4. Coloque el tubo etiquetado con el código de barras en un soporte de tubos de muestras y asegúrese de que se quite el tapón antes de cargarlo en el NeuMoDx System.
5. Distribuya en partes alícuotas la muestra de acuerdo con los volúmenes definidos a continuación para muestras de **SurePath**:
 - Soporte de tubos de muestras (32 tubos): 11-14 mm de diámetro y 60-120 mm de altura; volumen de llenado mínimo = 450 µl
 - Soporte de tubos de muestras (24 tubos): 14,5-18 mm de diámetro y 60-120 mm de altura; volumen de llenado mínimo = 800 µl
 - Soporte de tubos de muestras de volumen bajo (32 tubos): Tubo de microcentrífuga de fondo cónico de 1,5 ml; volumen de llenado mínimo = 300 µl

Funcionamiento del NeuMoDx System

Para obtener instrucciones detalladas, consulte los Manuales del operador del NeuMoDx 288 y del 96 Molecular System (ref. 40600108 y 40600317)

1. Cargue el pedido de prueba en el NeuMoDx System de acuerdo con el tipo de muestra deseado.
 - Se analizan las muestras de PreservCyt mediante la definición de la muestra como "Citología".
 - Las muestras de SurePath pretratadas se analizan mediante la definición de la muestra como "UserSpecified1".

Si no se ha definido en el pedido de prueba, se utilizará el tipo de muestra de PreservCyt por defecto.

2. Rellene uno o más soportes de NeuMoDx System Test Strip con las NeuMoDx HPV Test Strips y utilice la pantalla táctil para cargar los soportes de tiras reactivas en el NeuMoDx System.
3. Si se lo pide el software del NeuMoDx System, añada los consumibles necesarios a los soportes de consumibles del NeuMoDx System y utilice la pantalla táctil para cargar los soportes en el NeuMoDx System.
4. Si se lo pide el software del NeuMoDx System, sustituya el NeuMoDx Wash Reagent y el NeuMoDx Release Reagent, y vacíe los residuos de cebado, el contenedor para desechos con riesgo biológico (solo el NeuMoDx 288 Molecular System), el recipiente para puntas de desecho (solo el NeuMoDx 96 Molecular System) o el recipiente para desechos con riesgo biológico (solo el NeuMoDx 96 Molecular System), según resulte adecuado.
5. Cargue los tubos de muestras en el soporte de tubos de muestras y asegúrese de que se hayan retirado los tapones de todos los tubos.
6. Coloque los soportes de tubos de muestras en el estante del cargador automático y utilice la pantalla táctil para cargar los soportes en el NeuMoDx System. De ese modo, se iniciará el procesamiento de las muestras cargadas para los análisis identificados, dado que hay un pedido de prueba válido en el sistema.

LIMITACIONES

1. La NeuMoDx HPV Test Strip solo puede utilizarse en los NeuMoDx Systems.
2. Se ha establecido el rendimiento de la NeuMoDx HPV Test Strip para su uso con muestras cervicouterinas (raspados) en PreservCyt, SurePath o medios de citología equivalentes. No se ha evaluado el uso de la NeuMoDx HPV Test Strip con otras fuentes y se desconocen las características del rendimiento para otros tipos de muestras o medios de recogida.

3. Solo se pueden usar las muestras de SurePath pretratadas con el tampón Viral Lysis Buffer en los NeuMoDx Molecular Systems. Las muestras puras pueden generar resultados no válidos o inferiores al nivel óptimo.
4. Dado que la detección de VPH depende de la cantidad de tejido presente en la muestra, los resultados fiables dependen de una recogida, una manipulación y un almacenamiento correctos de las muestras.
5. Los resultados erróneos se podrían deber a una recogida, una manipulación o un almacenamiento incorrectos de la muestra, o bien a un error técnico o a la confusión de los tubos de muestras. Además, los resultados negativos falsos se podrían deber a que el número de partículas víricas en la muestra es inferior al límite de detección del NeuMoDx HPV Assay.
6. El funcionamiento del NeuMoDx System solo puede estar a cargo de personal con formación en el uso del NeuMoDx System.
7. Si tanto las dianas del VPH como la diana de la β -globina no se amplifican, se notificará un resultado no válido (Indeterminate [Indeterminado], No Result [Sin resultado] o Unresolved [No resuelto]) y deberá repetirse la prueba.
8. Un resultado positivo no indica necesariamente la presencia de VPH viables. Sin embargo, un resultado positivo puede indicar la presencia de ADN del VPH.
9. Las eliminaciones o mutaciones en las regiones conservadas diana del NeuMoDx HPV Assay pueden afectar a la detección y podrían dar lugar a un resultado erróneo.
10. Los resultados del ensayo NeuMoDx HPV Assay deben utilizarse como complemento de las observaciones clínicas y otra información que el médico tenga a su disposición.
11. Para evitar la contaminación, se recomienda seguir las prácticas recomendadas de laboratorio, entre las que se incluye cambiar de guantes entre la manipulación de las muestras de pacientes.

PROCESAMIENTO DE LOS RESULTADOS

Los resultados disponibles se pueden ver o imprimir desde la pestaña 'Results' (Resultados), en la ventana Results (Resultados) en la pantalla táctil del NeuMoDx System. El software del NeuMoDx System genera automáticamente los resultados del NeuMoDx HPV Assay utilizando el algoritmo de decisión y los parámetros de procesamiento de los resultados especificados en el archivo de definición de ensayo del VPH NeuMoDx (ADF del VPH). El resultado de un NeuMoDx HPV Assay puede informarse como Negative (Negativo), Positive (Positivo), Indeterminate (Indeterminado, IND), No Result (Sin resultado, NR) o Unresolved (No resuelto, UNR) en función del estado de amplificación de los analitos y el control del procesamiento de muestras. Los resultados se notifican en función del algoritmo de decisión del archivo de definición de ensayo (Assay Definition File, ADF), como se resume a continuación en la *tabla 1*.

Se establecieron los umbrales de Ct para cada uno de los analitos y se han presentado en la *tabla 2* que se muestra a continuación para alinearse con la pertinencia clínica del ensayo. Puede haber situaciones en las que se observe una curva de amplificación del analito, pero se informe un resultado Negative (Negativo). Este informe es coherente con el procesamiento de los resultados y los criterios del valor de corte validados por NeuMoDx.

Un médico deberá evaluar los resultados notificados por el NeuMoDx HPV Test en el marco de otros hallazgos.

Tabla 1. Resumen del algoritmo de decisión del ensayo del VPH.

RESULTADO	HPV16	HPV18	Otro VPH	CONTROL DE PROCESO (β G)
POSITIVE (POSITIVO)	AMPLIFIED (AMPLIFICADO)	N/A^ (N/D)	N/A^ (N/D)	N/A^ (N/D)
POSITIVE (POSITIVO)	N/A^ (N/D)	AMPLIFIED (AMPLIFICADO)	N/A^ (N/D)	N/A^ (N/D)
POSITIVE (POSITIVO)	N/A^ (N/D)	N/A^ (N/D)	AMPLIFIED (AMPLIFICADO)	N/A^ (N/D)
NEGATIVE (NEGATIVO)	NOT AMPLIFIED (NO AMPLIFICADO)	NOT AMPLIFIED (NO AMPLIFICADO)	NOT AMPLIFIED (NO AMPLIFICADO)	AMPLIFIED (AMPLIFICADO)
IND (INDETERMINADO)	NOT AMPLIFIED, System Error Detected, Sample Processing Completed (No amplificado, se ha detectado un error del sistema, procesamiento de la muestra completado)			
IND/NR* (INDETERMINADO/SIN RESULTADO)	NOT AMPLIFIED, System Error Detected, Sample Processing Aborted (No amplificado, se ha detectado un error del sistema, procesamiento de la muestra anulado)			
UNR (NO RESUELTO)	NOT AMPLIFIED, No System Errors Noted (NO AMPLIFICADO, sin errores del sistema observados)			

* La indicación No Result (Sin resultado) solo se notifica en las versiones de software 1.8 y superiores del NeuMoDx System.

^ N/A (N/D) = Not Applicable (No disponible)

Tabla 2. Valores de corte de Ct para resultados positivos

RESULTADO	HPV16	HPV18	Otro VPH	CONTROL DE PROCESO (βG)
POSITIVE (POSITIVO)	33	33	30	N/A (N/D)*

* N/A (N/D) = Not Applicable (No disponible)

Control de calidad

La normativa local especifica habitualmente que el laboratorio es responsable de los procedimientos de control que supervisan la exactitud y la precisión del proceso analítico completo, y debe establecer el número, el tipo y la frecuencia de los materiales de control de las pruebas mediante especificaciones de rendimiento verificadas para un sistema de pruebas no modificado y aprobado.

Controles (externos) definidos por el usuario

1. El laboratorio debe seleccionar y validar los controles definidos por el usuario adecuados de conformidad con las directrices locales. Tenga en cuenta que los controles definidos por el usuario deben cumplir con las mismas especificaciones de volumen mínimo que las muestras clínicas anteriormente especificadas, en función del tamaño del soporte de tubos de muestras.
2. Cuando procese controles definidos por el usuario, coloque los controles etiquetados en un soporte de tubos de muestras y utilice la pantalla táctil para cargar el soporte en el NeuMoDx System desde el estante del cargador automático. Una vez definidos, el NeuMoDx System reconocerá los códigos de barras y comenzará a procesar los controles.
3. Se recomienda que los usuarios procesen un conjunto de controles positivos y negativos definidos por el usuario cada 24 horas.
4. Un resultado positivo de una prueba notificado para una muestra de control negativo definido por el usuario puede indicar que existe un problema de contaminación de la muestra. Para obtener consejos sobre la resolución de problemas, consulte el *Manual del operador del NeuMoDx 288 Molecular System* o el *Manual del operador del NeuMoDx 96 Molecular System*.
5. Un resultado negativo notificado para una muestra de control positivo definido por el usuario puede indicar que existe un problema relacionado con un reactivo o con el NeuMoDx System. Para obtener consejos sobre la resolución de problemas, consulte el *Manual del operador del NeuMoDx 288 Molecular System* o el *Manual del operador del NeuMoDx 96 Molecular System*.

Control (interno) de proceso de muestras

La β-globina (βG) se utiliza como un control interno endógeno, como si estuviese presente en los raspados cervicouterinos recogidos adecuadamente. La diana de la βG se somete a todo el proceso de extracción del ácido nucleico y la amplificación de la RCP inmediata con cada muestra, y también funciona como un control de calidad de la muestra. La sonda y los cebadores específicos para la βG se incluyen en cada NeuMoDx HPV Test Strip junto con los cebadores y sondas para las diferentes dianas del VPH, lo que permite detectar la βG junto con el ADN del VPH diana (si está presente) mediante RCP múltiple. La detección de la amplificación de la βG permite al software del NeuMoDx System supervisar la eficacia de la recogida de muestras, los procesos de extracción del ADN y amplificación por RCP.

Controles de los NeuMoDx Systems

Los NeuMoDx Systems realizan diversos controles internos de instrumento como se describe a continuación:

1. Antes de la RCP, el NeuMoDx System lleva a cabo de forma automática un "FILL CHECK" (Control de llenado) para asegurar que la cámara de RCP se llena de solución y contiene una cantidad adecuada de sonda fluorescente.
2. El software del NeuMoDx System supervisa de forma continua los sensores y activadores en el instrumento para asegurar un funcionamiento seguro y efectivo del sistema.
3. Se implementan varios modos de recuperación de errores relacionados con fluidos mediante la supervisión activa de las maniobras de aspiración y dispensación para garantizar que el sistema pueda completar el procesamiento de todas las muestras de manera segura y eficaz o proporcionar un código de error adecuado.
4. El NeuMoDx System está equipado con una función Rerun (Nuevo análisis)/Repeat (Repetición) automática que el usuario final puede elegir para asegurar que se vuelva a procesar de manera automática un resultado INVALID (No válido) para así minimizar los retrasos en el informe de resultados.

Resultados no válidos

Si un NeuMoDx HPV Assay realizado en el NeuMoDx System no logra generar un resultado válido, se notificará como Indeterminate (Indeterminado, IND), Unresolved (No resuelto, UNR) o No Result (Sin resultado, NR) en función del tipo de error que se haya presentado.

Se notificará un resultado IND (Indeterminado) si se detecta un error del NeuMoDx System durante el procesamiento de la muestra. En el caso de que se notifique un resultado IND (Indeterminado), se recomienda repetir la prueba.

Se notificará un resultado UNR (No resuelto) si no se detecta ninguna amplificación válida del ADN del VPH ni de la βG, lo que indica un posible fallo de los reactivos o la presencia de inhibidores. Si se notifica un resultado UNR (No resuelto), se recomienda repetir la prueba como primer paso. Si una nueva prueba falla, puede utilizarse una dilución de la muestra para mitigar los efectos de cualquier inhibición de la muestra.

Se notificará un resultado NR (Sin resultado) si se ha cancelado el procesamiento de la muestra debido a un error del sistema. Si se notifica un resultado NR (Sin resultado), se recomienda repetir la prueba. Esta indicación solo se notifica en las versiones de software 1.8 y superior de NeuMoDx. En versiones inferiores del software, este error se notifica como IND (Indeterminado).

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

Sensibilidad analítica

El límite de detección (Limit of Detection, LoD) se determinó con una serie de diluciones de gBlock (bloques bicatenarios de ADN genómico) triplicado en serie que contienen la región del amplicón de cada uno de los tipos de VPH con diana (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67, 68) y la β -globina. Cada una de las series de dilución de seis miembros se preparó en un fondo de ADN humano de 2000 ng/ml (excepto para la β -globina) y la concentración analizada en 45 veces. Los resultados del estudio en que se determinó el límite de detección (Limit of Detection, LoD) con un análisis del 95 % de la tasa de aciertos se presentan a continuación en la *tabla 3*.

Tabla 3. Límite de detección (Limit of Detection, LoD) del NeuMoDx HPV Assay de 15 tipos de VPH de alto riesgo y gen β -globina

Análito	Límite de detección (copias/ml)
HPV 16	8.230
HPV 18	2.743
HPV 31	24.691
VPH 33, 35, 39, 45, 51, 56, 66, 67	74.074
VPH 52, 58, 59	222.222
HPV 68	666.667
β -globina	74.074

Especificidad analítica

La especificidad analítica del NeuMoDx HPV Assay se determinó frente al ADN de genomas de VPH no diana (*Tabla 4*) a 1×10^6 copias/ml y en comparación con los microorganismos vaginales patógenos potenciales que se muestran en la *Tabla 5* a 1×10^6 UFC/ml o 1×10^5 PFU/ml. El ensayo no mostró reactividad cruzada con los tipos de VPH no diana 6, 11, 26, 30, 34, 53, 69, 73, 82, 85 ni con los microorganismos. Se observaron resultados positivos de "HPV Other" (Otros VPH) con VPH 70 —probablemente debido a la homología de alta secuencia entre los tipos 39, 68 y 70— y un estudio de valoración posterior indicaba que este tipo podría detectarse a $\geq 4,12 \times 10^6$ copias/ml. El VPH 70 se considera probablemente cancerígeno, según ciertos estudios epidemiológicos, filogenéticos y funcionales.

Tabla 4. Tipos de VPH no diana evaluados para reactividad cruzada

Genotipos de VPH no diana	
HPV 6	HPV 69
HPV 11	HPV 70
HPV 26	HPV 73
HPV 30	HPV 82
HPV 34	HPV 85
HPV 53	

Tabla 5. Microorganismos evaluados para reactividad cruzada

Microorganismo		
Adenovirus*	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	Virus de Epstein-Barr	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus agalactiae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Fusobacterium spp.</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Virus del herpes simple de tipo 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	Virus del herpes simple de tipo 2	<i>Staphylococcus faecalis</i>
<i>Corynebacterium spp.</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Staphylococcus pyogenes</i>
Citomegalovirus	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
<i>Treponema pallidum**</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	

* analizado a 1×10^5 (TCID₅₀)/ml

** realizado mediante análisis informáticos

Reproducibilidad analítica

La reproducibilidad analítica del NeuMoDx HPV Assay se evaluó con el mismo conjunto de datos que se usó para el estudio del límite de detección. Las muestras se analizaron a 3 veces el LoD en 3 NeuMoDx Molecular Systems distintos, un sistema N288 y dos sistemas N96, con 3 lotes diferentes de NeuMoDx HPV Test Strips. Los datos mostraron una reproducibilidad general excelente, con un CV máximo de 3,0 % para cada uno de los genotipos analizados, tal y como se muestra en la *tabla 6*. Además, este conjunto de datos se usó para mostrar la reproducibilidad entre lotes de reactivos y sistemas, tal y como se muestra en la *tabla 7*.

Tabla 6. Genotipos de VPH de alto riesgo analizados

Analito	Concentración de analitos	Copias/ml	Tasa de aciertos	CV general
β-globina	3 veces el 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 %

Tabla 7. Reproducibilidad entre lotes y entre sistemas

Analito	CV de variabilidad de lotes			CV de variabilidad de sistemas		
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Sistema 1 (N96)	Sistema 2 (N288)	Sistema 3 (N96)
β-globina	1,5 %	2,4 %	1,0 %	1,7 %	2,4 %	1,0 %
HPV 16	0,9 %	1,1 %	1,6 %	1,8 %	1,0 %	0,9 %
HPV 18	1,2 %	1,6 %	0,9 %	1,1 %	1,0 %	1,5 %
HPV 31	1,3 %	1,5 %	1,1 %	1,1 %	1,2 %	1,1 %
HPV 33	2,1 %	1,4 %	1,2 %	0,9 %	2,5 %	0,9 %
HPV 35	0,7 %	0,7 %	0,9 %	0,9 %	0,7 %	0,8 %
HPV 39	1,6 %	1,6 %	0,8 %	1,1 %	1,9 %	0,9 %
HPV 45	1,5 %	1,4 %	1,7 %	1,4 %	1,6 %	1,1 %
HPV 51	2,1 %	1,2 %	1,9 %	1,1 %	2,3 %	1,4 %
HPV 52	2,2 %	4,0 %	2,5 %	1,5 %	3,9 %	1,6 %
HPV 56	1,4 %	1,5 %	1,1 %	0,6 %	1,5 %	1,3 %
HPV 58	1,3 %	3,2 %	2,2 %	2,1 %	1,8 %	3,0 %
HPV 59	2,3 %	2,4 %	2,7 %	1,1 %	2,3 %	0,9 %
HPV 66	2,5 %	1,5 %	0,8 %	1,3 %	2,3 %	1,3 %
HPV 67	1,1 %	1,2 %	1,8 %	0,6 %	2,1 %	1,1 %
HPV 68	1,4 %	3,1 %	3,8 %	1,5 %	3,9 %	1,9 %

Sustancias causantes de interferencias

Las muestras elaboradas de PreservCyt se mezclaron con un baculovirus recombinante que incorpora regiones de amplicones de VPH 16, 18, 51 y β -globina a 1000 copias/ml y las sustancias enumeradas en la *Tabla 8*. Ninguno de los agentes tuvo un efecto inhibitor significativo en el rendimiento del ensayo.

Tabla 8. Sustancias que pueden causar interferencias analizadas

	Sustancia	Concentración
Endógena	Sangre completa (humana)	1 % (volumen/volumen)
	Leucocitos	10 ⁶ células/ml
	Mucina	1 % (volumen/volumen)
Exógena	Lavado vaginal	1 % (volumen/volumen)
	Crema antifúngica	1 % (masa/volumen)
	Espermicida	1 % (masa/volumen)
	Lubricante vaginal	1 % (masa/volumen)
	Aerosol femenino	1 % (volumen/volumen)
	Espuma anticonceptiva	1 % (masa/volumen)

Estabilidad de las muestras en el instrumento

El control de baculovirus recombinante que contiene VPH 16, 18, 51 y β -globina se mezcló a aproximadamente 3 veces el LoD (cop/ml) en los medios de recogida SurePath o PreservCyt y se procesó mediante el NeuMoDx HPV Assay. Al final del procesamiento, todos los tubos de muestras positivas y negativas se dejaron en la mesa de trabajo del sistema durante 4, 8 y 24 horas y, a continuación, se volvieron a procesar. El resultado esperado en todos los puntos temporales fue POSITIVE (Positivo) para todas las muestras de citología mezcladas con el analito y NEGATIVE (Negativo) (para todos los analitos) en las muestras de citología que no se mezclaron con el analito. Se observó una concordancia total con el resultado esperado en el punto temporal de 24 horas, demostrándose una estabilidad en el instrumento de 24 horas para el análisis con el NeuMoDx HPV Assay. En la *tabla 9* se resumen los resultados. Las muestras de PreservCyt experimentaron hasta un 20 % de evaporación mientras se almacenaron en el sistema durante 24 horas, pero ello no tuvo un impacto en la detección de analitos en el nivel analizado.

Tabla 9. Resumen de los datos de estabilidad de las muestras en el instrumento

Estabilidad de las muestras en el instrumento	Analito	PreservCyt		SurePath	
		T ₀	24 horas	T ₀	24 horas
		% de concordancia	% de concordancia	% de concordancia	% de concordancia
Conjunto positivo	HPV 16	100 %	100 %	100 %	100 %
	HPV 18	100 %	100 %	100 %	100 %
	Otro VPH	100 %	100 %	100 %	100 %
	β -globina	100 %	100 %	100 %	100 %
Conjunto negativo	Negativo (solo β -globina)	100 %	100 %	100 %	100 %

Rendimiento clínico: medio de recogida PreservCyt

La especificidad y sensibilidad clínica del NeuMoDx HPV Assay para neoplasias intraepiteliales cervicouterinas de grado 2 o superiores (Cervical Intraepithelial Neoplasia grade 2 or higher, CIN2+) en muestras cervicouterinas recogidas en PreservCyt se evaluaron mediante un análisis de no inferioridad con respecto al ensayo de referencia (p. ej., GP5+/6+-RPC-EIA para VPH de alto riesgo) que cumple las pautas internacionales para los requisitos de prueba del VPH para detección de cáncer cervicouterino.¹⁶ Con un formato de estudio de casos y controles, se analizaron 67 muestras de mujeres a partir de 30 años con CIN2+ confirmado histológicamente (p. ej., casos; *tabla 10*). Para la especificidad clínica, se analizaron 823 muestras citológicas con base líquida recogidas consecutivamente de la población estudiada de mujeres con citología normal y sin evidencias de CIN2+ en un plazo de 2 años de seguimiento (p. ej., controles). La tasa de éxito general con el NeuMoDx HPV Assay fue de 99,4 % (818/823), como se muestra en la *tabla 11*. La sensibilidad clínica del NeuMoDx HPV Assay para CIN2+ fue de 92,5 % (62/67; IC del 95 %, 83,3-96,9) y la especificidad clínica para CIN2+ fue de 95,6 % (782/818; IC del 95 %, 92,2-97,6), que no son inferiores a los valores del ensayo de referencia GP5+/6+-RPC-EIA ($p = 0,02$ y $p < 0,0001$, respectivamente).

Tabla 10. Resultados de sensibilidad clínica para muestras de mujeres a partir de 30 años con CIN2+ confirmada

Prueba de referencia	NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	TOTAL
POS	61	2	63
NEG	1	3	4
TOTAL	62	5	67
Sensibilidad clínica con NeuMoDx HPV Assay: 92,5 % (IC del 95 %, 83,3-96,9)			

Tabla 11. Resultados de especificidad clínica para muestras de mujeres con citología normal y sin CIN2+ confirmada

Prueba de referencia	NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	TOTAL
POS	28	19	47
NEG	8	763	771
TOTAL	36	782	818
Especificidad clínica con NeuMoDx HPV Assay: 95,6 % (IC del 95 %, 92,2-97,6)			

Para mujeres menores de 30 años, se analizaron 173 muestras citológicas con base líquida de mujeres que acudieron a clínica ambulatoria. La tasa de éxito del NeuMoDx HPV Assay fue de 98,3 % (170/173) (Tabla 12). La sensibilidad de CIN3+ del NeuMoDx HPV Assay fue de 91,1 % (41/45; IC del 95 %, 78,6-96,6) y la especificidad de CIN3+ fue de 51,2 % (64/125; IC del 95 %, 42,5-60,0). Los valores relativos de sensibilidad y especificidad se compararon con el QIAScreen HPV RPC Test fue de 1,03 y 1,10, respectivamente.

Tabla 12. Rendimiento del NeuMoDx HPV Assay en mujeres menores de 30 años estratificado según la histología y QIAScreen HPV PCR Test

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

Para mujeres con ASC-US o LSIL, la sensibilidad clínica para CIN2+ fue de 91,7 % (11/12; IC del 95 %, 58,7-98,8) y la especificidad clínica para CIN2+ fue de 75,0 % (15/20; IC del 95 %, 52,2-89,2) (Tabla 13).

Tabla 13. Rendimiento de NeuMoDx HPV Assay en mujeres con citología con ASC-US/LSIL estratificada según la histología y el resultado de la prueba de referencia

Histología	Ensayo de referencia	NeuMoDx HPV Assay		
		NEG	POS	TOTAL
<=CIN1	NEG	13	-	13
	POS	2	5	7
	TOTAL	15	5	20
CIN2	NEG	-	-	-
	POS	-	6	6
	TOTAL	-	6	6
CIN3+	NEG	1	-	1
	POS	-	5	5
	TOTAL	1	5	6
GLOBAL	NEG	14	-	14
	POS	2	16	18
	TOTAL	16	16	32

Rendimiento clínico del medio de recogida SurePath

La sensibilidad y especificidad clínicas del NeuMoDx HPV Assay para la detección de CIN2+ se determinaron con 948 muestras de raspado cervicouterino recogidas en el medio de recogida SurePath mediante un diseño de estudio de casos y controles. La sensibilidad y especificidad relativas para CIN2+ del NeuMoDx HPV Assay comparadas con un ensayo de referencia validado clínicamente (p. ej., un ensayo de riesgo de VPH) se determinaron con base en el método estadístico de una "prueba de puntuación de no inferioridad".

La sensibilidad clínica se determinó con 106 muestras de mujeres diagnosticadas con estados de CIN2+ confirmados histológicamente (p. ej., casos). La edad promedio de las mujeres era de 38 años (rango de 30-58). Se determinó que la sensibilidad del NeuMoDx HPV Assay era de 92,5 % (98/106; IC del 95 %: 85,6-96,2) e igual a la del ensayo de referencia de riesgo de VPH (Tabla 14). La sensibilidad relativa del NeuMoDx HPV Assay comparada con el ensayo de riesgo de VPH fue de 1,00 con un valor de P = 0,0009 en la prueba de puntuación de no inferioridad.

La especificidad clínica se determinó con base en 842 muestras citológicas con base líquida (Liquid Base Cytology, LBC) (SurePath) de la población estudiada de mujeres con citología normal y sin evidencias de CIN2+ en un plazo de 2 años de seguimiento. La edad promedio de las mujeres era de 43 años (rango de 30-59) y el 98,6 % (935/948) de las muestras resultó válido. La especificidad del NeuMoDx HPV Assay fue del 93,5 % (775/829; IC del 95 %, 91,6-95,0) y la del ensayo de referencia de riesgo de VPH fue del 91,9 % (762/829; IC del 95 %: 89,9-93,6) (Tabla 15). La especificidad relativa del NeuMoDx HPV Assay comparada con el ensayo de riesgo de VPH fue de 1,02 con un valor de P < 0,0001 en la prueba de puntuación de no inferioridad.

Tabla 14. Resultados de sensibilidad clínica para muestras de mujeres con CIN2+ confirmada en el medio de recogida SurePath

Prueba de referencia	NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	TOTAL
POS	97	1	98
NEG	1	7	8
TOTAL	98	8	106
Sensibilidad clínica con NeuMoDx HPV Assay: 92,5 % (IC del 95 %, 85,6-96,2)			

Tabla 15. Resultados de especificidad clínica para muestras de mujeres con citología normal y sin CIN2+ confirmada en el medio de recogida SurePath

Prueba de referencia	NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	TOTAL
POS	48	6	54
NEG	19	756	775
TOTAL	67	775	842
Especificidad clínica con NeuMoDx HPV Assay: 93,5 % (IC del 95 %, 91,6-95,0)			

Reproducibilidad clínica

La reproducibilidad intralaboratorio y la concordancia interlaboratorio de la prueba en muestras clínicas recogidas en PreservCyt se evaluó de acuerdo con las pautas internacionales para los requisitos de prueba del VPH para detección de cáncer cervicouterino.¹⁶ La reproducibilidad intralaboratorio en muestras cervicouterinos durante el estudio fue del 96,0 % (484/504; IC del 95 %, 94,3-97,4) con un valor kappa (κ) de 0,90 (Tabla 16). Los resultados de estos momentos de prueba se evaluaron para concordancia con los valores de otros lugares de prueba, y se obtuvieron concordancias interlaboratorio de 96,4 % (486/504; IC del 95 %, 94,8-97,7) con $\kappa = 0,91$ y 94,4 % (476/504; IC del 95 %, 92,5-96,1) con $\kappa = 0,86$ para el primer y el segundo momento de la prueba, respectivamente (Tabla 17).

Tabla 16. Reproducibilidad intralaboratorio a lo largo del tiempo del NeuMoDx HPV Assay

Resultado de la prueba 1 del NeuMoDx HPV Assay	Resultado de la prueba 2 del NeuMoDx HPV Assay		
	NEG	POS	TOTAL
NEG	347	13	360
POS	7	137	144
TOTAL	354	150	504
Reproducibilidad = 96,0 % (IC del 95 %, 94,3-97,4); $\kappa = 0,90$			

Tabla 17. Concordancia interlaboratorio del NeuMoDx HPV Assay

Prueba externa del NeuMoDx HPV Assay	NeuMoDx HPV Assay: resultado de la prueba interna 1			NeuMoDx HPV Assay: resultado de la prueba interna 2		
	NEG	POS	TOTAL	NEG	POS	TOTAL
NEG	355	13	368	347	21	368
POS	5	131	136	7	129	136
TOTAL	360	144	504	354	150	504
Concordancia del 96,4 % (IC del 95 %, 94,8-97,7); $\kappa = 0,91$			Concordancia del 94,4 % (IC del 95 %, 92,5-96,1); $\kappa = 0,86$			

REFERENCIAS

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, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
18. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

MARCAS COMERCIALES

NeuMoDx™ y NeuDry™ son marcas comerciales de NeuMoDx Molecular, Inc.

Hamilton® es una marca comercial registrada de Hamilton Company.

PreservCyt® es una marca comercial registrada de Hologic, Inc.

SurePath™ es una marca comercial de Becton Dickinson (BD).

El resto de los nombres de productos, marcas comerciales y marcas comerciales registradas que pueden aparecer en este documento son propiedad de sus respectivos dueños.

CLAVE DE SÍMBOLOS

R only	Solo para uso prescriptivo		Límite de temperatura
	Fabricante		No reutilizar
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>		Contenido suficiente para <n> pruebas
	Representante autorizado en la Comunidad Europea		Consultar las instrucciones de uso
REF	Número de referencia		Precaución
LOT	Código de lote		Riesgos biológicos
	Fecha de caducidad	CE	Marca CE



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

Patrocinador (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



Servicio técnico/Informes de vigilancia: support@qiagen.com

Patente: www.neumodx.com/patents