

**REF** 617007 NeuMoDx™ HPV Test Strip

R only

OPREZ: samo za izvoz u SAD

**IVD** Za *in vitro* dijagnostičku uporabu sa sustavima NeuMoDx 288 i NeuMoDx 96 Molecular SystemElektronička inačica dostupna je na [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)

Detaljnije upute potražite u korisničkom priručniku za sustav NeuMoDx 288 Molecular System; br. dijela 40600108

Detaljnije upute potražite u korisničkom priručniku za sustav NeuMoDx 96 Molecular System; br. dijela 40600317

### NAMJENA

Ispitivanje NeuMoDx HPV Assay, koje se izvodi na sustavima NeuMoDx 96 Molecular System i NeuMoDx 288 Molecular System (sustav(i) NeuMoDx System), brzo je, automatizirano *in vitro* dijagnostičko ispitivanje amplifikacije nukleinske kiseline temeljene na PCR-u u stvarnom vremenu za kvalitativnu detekciju DNK visokorizičnih tipova humanog papilomavirusa (Human Papillomavirus, HPV) u cervikalnim ispitcima. Test konkretno identificira HPV16 i HPV18 istodobno otkrivajući druge visokorizične tipove (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 i 68) pri klinički relevantnim razinama infekcije. Cervikalni ispitci koje je moguće testirati ispitivanjem NeuMoDx HPV Assay uključuju cervikalne ispitke koje je prikupio liječnik primjenom četkice/metlice za uzimanje uzoraka očuvane u mediju tekućinske citologije PreservCyt® (HOLOGIC) i SurePath™ (BD). Ispitivanje je namijenjeno za primjenu kao primarni test za probir žena u dobi od 21 godine i više za rizik od (pre)kanceroze vrata maternice radi utvrđivanja potrebe za upućivanjem na kolposkopiju ili druge kontrolne postupke te kao kontrolni test za žene kojima su nalazi Papa-testa pokazali atipične skvamozne stanice neodređenog značenja (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) ili skvamoznu intraepitelnu leziju niskog stupnja (Low-grade Squamous Intra-epithelial Lesion, LSIL) radi utvrđivanja potrebe za upućivanjem na kolposkopiju ili druge kontrolne postupke. Te se informacije, zajedno s liječnikovom procjenom prethodnih citoloških nalaza, anamneze, ostalih čimbenika rizika i profesionalnih smjernica mogu upotrebljavati za vođenje liječenja pacijenata.

Ovaj proizvod namijenjen je za profesionalne korisnike, kao što su tehničari i zaposlenici u laboratorijima koji su prošli obuku za *in vitro* dijagnostičke postupke i molekularno-biološke tehnike.

### SAŽETAK I OBJAŠNENJE

Rak vrata maternice i lezije koje mu prethode (Cervikalna Intraepitelna Neoplazija, CIN) uzrokuje trajna infekcija visokorizičnim tipom humanog papilomavirusa (HPV).<sup>1-3</sup> HPV virusi maleni su virusi s dvolančanim DNK, a pripadaju porodici Papillomaviridae. Veličina cirkularnog genoma iznosi oko 7,9 kilobaza. Identificirano je više od 100 tipova HPV-a, od kojih su određeni tipovi HPV-a, poznati kao visokorizični HPV (high-risk HPV, hrHPV) kao što su HPV 16 i 18, povezani s indukcijom mukoznih lezija koje mogu postati maligne. Genom virusa sadržava rane (eng. Early, E) i kasne (eng. Late, L) gene, koji redom kodiraju proteine nužne za rane i kasne faze životnog ciklusa HPV-a. Produkti gena E6 i E7 tipova hrHPV-a imaju karcinogena svojstva i nužni su za malignu transformaciju stanice domaćina.<sup>4</sup> Maligna se progresija često povezuje s integracijom virusa u genom stanice domaćina.<sup>5</sup> Rezultati integracije u prekidu virusnog genoma u regiji koja se može proširiti s E1 na L1 otvaraju okvir očitavanja.<sup>6</sup> To može imati posljedice za amplifikaciju DNK virusa posredovanu PCR-om u tim regijama. Budući da ne samo inicijacija, već i održavanje transformiranog fenotipa ovisi o kontinuiranoj ekspresiji virusnih onkoproteina, virusna regija E6/E7 nepromijenjeno se zadržava u integriranim virusnim genomima u slučajevima raka vrata maternice.<sup>6,7,8</sup>

Rak vrata maternice rijetka je komplikacija infekcije HPV-om; cjeloživotni rizik od infekcije hrHPV-om procjenjuje se na oko 80 %, a veliku većinu infekcija uklanja imunološki sustav domaćina te se lezije tako ni ne uspiju razviti.<sup>9</sup> Nakon uklanjanja infekcije HPV-om, CIN lezije obično se povlače.<sup>10</sup>

Testiranje na DNK HPV-a pruža bolju zaštitu od raka vrata maternice i CIN lezija koje mu prethode nego citomorfološka analiza (tj. Papa-test) u cervikalnim uzorcima prilikom primarnog probira žena u dobi od 30 godina ili više te prilikom trijaže žena u dobi od 21 godine i više s nalazima citologije cerviksa koji pokazuju ASC-US (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) ili LSIL.<sup>11-15</sup> Primarni cervikalni probir temeljen na HPV-u provodi se u nekoliko zemalja diljem svijeta, a objavljene su i međunarodne smjernice sa zahtjevima za testiranje DNK HPV-a za primarni probir raka vrata maternice.<sup>16</sup> Ispitivanje NeuMoDx HPV Assay cilja dvije konzervirane regije unutar gena E7 genoma HPV-a, čime prevladava potencijalne lažno negativne rezultate nakon integracije virusa u genom domaćina.

### NAČELA POSTUPKA

Ispitivanje NeuMoDx HPV Assay kombinira automatiziranu ekstrakciju DNK i amplifikaciju/detekciju izvođenjem PCR-a u stvarnom vremenu. Cervikalni se ispitci prikupljaju u otopinu za tekuću citologiju, a zatim se prenose u kompatibilnu sekundarnu epruvetu za ispitke označenu crtičnim kodom i postavljaju na sustav NeuMoDx System. Sustav NeuMoDx System automatski aspirira alikvot ispitka kako bi ga pomiješao s puferom NeuMoDx Lysis Buffer 2 i agensima sadržanim u pločici NeuMoDx Extraction Plate za početak obrade. Sustav NeuMoDx System automatizira i integrira ekstrakciju i koncentraciju DNK, pripremu reagensa i amplifikaciju nukleinske kiseline/detekciju ciljnih sekvenci primjenom PCR-a u stvarnom vremenu. β-globinski (βG) DNK koji je prisutan u svakom ispravno prikupljenom ispitku služi kao endogena kontrola obrade uzoraka i pomaže u praćenju prisutnosti inhibirajućih tvari i pogrešaka sustava, obrade ili reagensa. Jednom kada su ispitak i potrebni potrošni materijal postavljeni na sustav NeuMoDx System, intervencija korisnika nije potrebna.

Sustav NeuMoDx System automatski provodi lizu, ekstrakciju DNK te uklanjanje inhibitora. Paramagnetske čestice hvataju oslobođene nukleinske kiseline. Čestice s vezanom nukleinskom kiselinom postavljaju se u uložak NeuMoDx Cartridge gdje se nevezani elementi ispiru s pomoću reagensa NeuMoDx Wash Reagent. Vezana DNK zatim se eluira s pomoću reagensa NeuMoDx Release Reagent. U sustavu NeuMoDx System eluirani DNK upotrebljava se za rehidraciju patentiranih NeuDry™ reagensa za amplifikaciju koji sadrže sve komponente neophodne za 40 ciklusa amplifikacije 15 ciljnih sekvenci HPV-a (ako su prisutne), kao i ciljne sekvence β-globina. To omogućuje istovremenu amplifikaciju i detekciju ciljnih sekvenci i kontrolnih DNK sekvenci. Nakon rekonstitucije suhih reagensa za PCR, sustav NeuMoDx System pipetira pripremljenu mješavinu za PCR u jednu PCR komoru (po ispitku) uložka NeuMoDx Cartridge. Amplifikacija i detekcija kontrolnih i ciljnih sekvenci (ako su prisutne) odvija se u PCR komori. Uložak NeuMoDx Cartridge osmišljen je da zadrži amplikon nakon PCR-a i na taj način gotovo ukloni rizik od kontaminacije nakon amplifikacije.

Amplificirane ciljne sekvence detektirane su u stvarnom vremenu s pomoću kemijskog protokola na temelju proba za hidrolizu (obično se naziva TaqMan® kemijski protokol) u kojem se upotrebljavaju fluorogene oligonukleotidne molekularne probe specifične za amplikone odgovarajućih ciljnih sekvenci. TaqMan probe sastoje se od fluorokroma kovalentno vezanog na 5' kraj oligonukleotidne probe i prigušivača na 3' kraju. Dok je proba netaknuta, fluorokrom i prigušivač nalaze se u blizini, zbog čega molekula prigušivača suzbija fluorescenciju koju fluorokrom emitira putem Försterova prijenosa rezonantne energije (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

TaqMan probe osmišljene su za sparivanje unutar regije DNK amplificirane određenim kompletom početnica. Kako DNK polimeraza Taq produžuje početnicu i sintetizira novi lanac, 5' do 3' egzonukleazna aktivnost DNK polimeraze Taq degradira probu sparenu s predložkom. Degradacijom probe oslobađa se fluorokrom i prekida se njegova blizina prigušivaču, čime se zbog FRET-a prevladava učinak prigušivanja i omogućava detekcija fluorokroma. Dobiveni fluorescentni signal detektiran u PCR termocikleru sustava NeuMoDx System izravno je proporcionalan oslobođenom fluorokromu i može se korelirati s količinom prisutne ciljne sekvence.

Proba TaqMan obilježena fluorokromom na 5' kraju i tamnim prigušivačem na 3' kraju upotrebljava se za detekciju HPV 16 (470/510 nm), HPV 18 (625/660 nm) i ostalih klinički značajnih visokorizičnih (High Risk, HR) tipova („HPV Other“ (HPV ostalo); 530/555 nm). Za detekciju β-globina proba TaqMan obilježena je alternativnom fluorescentnom bojom (585/610 nm) na 5' kraju i tamnim prigušivačem na 3' kraju. Softver sustava NeuMoDx System prati fluorescentni signal koji emitiraju TaqMan probe na kraju svakog ciklusa amplifikacije. Kada amplifikacija završi, softver sustava NeuMoDx System analizira podatke i izvještava rezultat (POSITIVE (POZITIVNO) / NEGATIVE (NEGATIVNO) / INDETERMINATE (NEODREĐENO) / UNRESOLVED (NERAZRIJEŠENO) / NO RESULT (NEMA REZULTATA)).

### REAGENSI / POTROŠNI MATERIJAL

#### Isporučeni materijal

REF.	Sadržaj	Jedinica po pakiranju	Testova po jedinici	Testova po pakiranju
617007	<b>Testna traka NeuMoDx HPV Test Strip</b> <i>Suhi reagensi za PCR koji sadržavaju probu i početnice TaqMan® specifične za HPV i βG</i>	6	16	96

#### Materijali koji su potrebni, ali nisu isporučeni (mogu se naručiti zasebno od tvrtke NeuMoDx)

REF.	Sadržaj
100200	<b>Pločica NeuMoDx Extraction Plate</b> <i>Suhe paramagnetske čestice, litički enzim i kontrola za β-globin</i>
400500	<b>Pufer NeuMoDx Lysis Buffer 2</b>
401600	<b>Pufer NeuMoDx Viral Lysis Buffer*</b>
400100	<b>Reagens NeuMoDx Wash Reagent</b>
400200	<b>Reagens NeuMoDx Release Reagent</b>
100100	<b>Uložak NeuMoDx Cartridge</b>
235903	<b>Vršci s filtrima (300 μl) Hamilton® CO-RE / CO-RE II</b>
235905	<b>Vršci s filtrima (1000 μl) Hamilton CO-RE / CO-RE II</b>

\*Potrebno za obradu prethodno obrađenih uzoraka u mediju SurePath

#### Potrebni instrumenti

Sustav **NeuMoDx 288 Molecular System** [REF. 500100] ili sustav **NeuMoDx 96 Molecular System** [REF. 500200]

### UPOZORENJA I MJERE OPREZA

- Testna traka NeuMoDx HPV Test Strip namijenjena je samo za *in vitro* dijagnostičku uporabu sa sustavima NeuMoDx Systems.
- Ne upotrebljavajte reagense ili potrošni materijal nakon navedenog datuma isteka roka trajanja.

- Ne upotrebljavajte reagense ako je zaštitna folija potrgana ili ako je pakiranje oštećeno po dolasku.
- Ne upotrebljavajte potrošni materijal ili reagense ako je zaštitna vrećica otvorena ili oštećena pri dolasku.
- Minimalni volumen ispitka sekundarnih alikvota ovisi o veličini epruvete / nosaču epruveta za ispitke kako je navedeno u nastavku. Volumen manji od navedenog minimuma može rezultirati pogreškom „Quantity Not Sufficient“ (Nedovoljna količina).
- Uporaba ispitaka koji su se čuvali pri neprikladnim temperaturama ili dulje od navedenog vremena pohrane može dati nevažne ili pogrešne rezultate.
- Jedino se ispitci u mediju SurePath prethodno obrađeni puferom Viral Lysis Buffer mogu upotrebljavati na sustavima NeuMoDx Molecular Systems. Čisti ispitci mogu dati nevažne ili manjkave rezultate.
- U ispitivanjima za provjeru valjanosti provedenima radi procjene stabilnosti ispitka na sustavu zbog velike hlapljivosti medija za prikupljanje PreservCyt zabilježeno je isparavanje ispitka do 20 %. Ne očekuje se da će to negativno utjecati na rezultate uzorka, ali je potrebno to uzeti u obzir prilikom pripreme uzoraka za odgođenu obradu. Nije uočeno značajno isparavanje kod prethodno obrađenih uzoraka u mediju SurePath.
- Izbjegavajte kontaminaciju svih reagensa i potrošnih materijala mikroorganizmima i deoksiribonukleazama (DNaza). Prilikom uporabe sekundarnih epruveta preporučuje se uporaba sterilnih jednokratnih pipeta za prijenos bez DNaze. Za svaki ispitak upotrebljavajte novu pipetu.
- Kako biste izbjegli kontaminaciju, ne rukujte uloškom NeuMoDx Cartridge i ne rastavljajte ga nakon amplifikacije. Nemojte vaditi uloške NeuMoDx Cartridges iz spremnika za biološki opasan otpad (NeuMoDx 288 Molecular System) ili koša za biološki otpad (NeuMoDx 96 Molecular System) ni u kojem slučaju. Uložak NeuMoDx Cartridge osmišljen je za sprječavanje kontaminacije.
- U slučajevima kada se u laboratoriju provode PCR testovi na otvorenim epruvetama, potreban je oprez kako ne bi došlo do kontaminacije testne trake NeuMoDx HPV Test Strip, dodatnog potrošnog materijala i reagensa potrebnih za testiranje, osobne zaštitne opreme poput rukavica i laboratorijskih kuta te sustava NeuMoDx System.
- Pri rukovanju reagensima i potrošnim materijalom NeuMoDx potrebno je nositi čiste nitrilne rukavice bez pudera. Pazite da ne dodirujete gornju površinu uloška NeuMoDx Cartridge, površinu folije testne trake NeuMoDx HPV Test Strip ili ekstrakcijske pločice NeuMoDx Extraction Plate ili gornju površinu pufera NeuMoDx Lysis Buffer 2; pri rukovanju potrošnim materijalom i reagensima smiju se dodirivati samo bočne površine.
- Sigurnosno-tehnički listovi (Safety Data Sheets, SDS) dostupni su (prema potrebi) za svaki reagens na [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu).
- Nakon izvođenja testa temeljito operite ruke.
- Ne pipetirajte ustima. Ne pušite, ne konzumirajte hranu i piće u područjima u kojima se rukuje ispitcima ili reagensima.
- Ispitcima uvijek rukujte kao da su infektivni te u skladu sa sigurnim laboratorijskim postupcima poput onih opisanih u *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>17</sup> i dokumentu M29-A4 instituta CLSI.<sup>18</sup>
- Odložite nekoristene reagense i otpad u skladu s državnim, saveznim, pokrajinskim i lokalnim propisima.
- Nije za ponovnu uporabu.

### POHRANA, RUKOVANJE I STABILNOST PROIZVODA

- Testne trake NeuMoDx HPV Test Strips stabilne su u primarnom pakiranju do datuma isteka roka trajanja navedenog na oznaci proizvoda kada se čuvaju na temperaturi od 15 do 23 °C.
- Nemojte ponovno postavljati nikakve proizvode za testiranje koji su prethodno bili postavljeni na *drugi* sustav NeuMoDx System.
- Nakon postavljanja testna traka NeuMoDx HPV Test Strip može ostati na sustavu NeuMoDx System 14 dana. Softver prati preostali uporabni vijek postavljenih testnih traka i obavještava korisnika u stvarnom vremenu. Sustav će zatražiti uklanjanje testne trake koja se upotrebljava dulje od dopuštenog razdoblja.

### PRIKUPLANJE, RUKOVANJE, POHRANA I PRIJEVOZ ISPITAKA

1. Ispitivanje NeuMoDx HPV Assay namijenjeno je za uporabu s uzorcima dobivenima iz cervikalnih ispitaka. Odobreni mediji za prikupljanje cervikalnih ispitaka su PreservCyt i SurePath. Za pripremu i pohranu slijedite upute proizvođača proizvoda za uzimanje ispitaka.
2. Prije uporabe, ispitke u mediju SurePath potrebno je prethodno obraditi u skladu s posebnim uputama u nastavku.
3. **Uzorke koji su se čuvali u hladnjaku potrebno je ostaviti na sobnoj temperaturi najmanje 30 minuta prije obrade radi ostvarivanja pravilnog radnog učinka sustava.**
4. Pripremljeni cervikalni ispitci mogu se pohraniti na sustavu NeuMoDx System do 24 sati prije obrade. Ako je potrebno dodatno vrijeme pohrane, preporučuje se pohrana ispitaka u skladu sa sljedećim:

Cervikalni ispitci u mediju **PreservCyt**:

- a. do 6 tjedana nakon uzorkovanja ako ih se čuva na temperaturi od 15 do 25 °C
- b. do 3 mjeseca nakon uzorkovanja ako ih se čuva na temperaturi od 2 do 8 °C
- c. do 8 godina ako ih se čuva na temperaturi od -80 °C. Ako su ispitci zamrznuti, ostavite ih da se u potpunosti odmrznu dok ne dosegnu sobnu temperaturu (15 – 30 °C) i promiješajte ih na vorteks miješalici za dobivanje ravnomjerno raspodijeljenog uzorka.

**Cervikalni ispitci u mediju SurePath:**

- do 30 dana nakon uzorkovanja ako ih se čuva na temperaturi od 2 do 30 °C
  - do 180 dana nakon uzorkovanja ako ih se čuva na temperaturi od 2 do 8 °C
  - do 180 dana ako ih se čuva na temperaturi od -20 °C. Ako su ispitci zamrznuti, ostavite ih da se u potpunosti odmrznu dok ne dosegnu sobnu temperaturu (15 – 30 °C) i promiješajte ih na vorteks miješalici kako biste dobili ravnomjerno raspodijeljeni uzorak.
- Ako se ispitci otpremaju, treba ih pakirati i označiti u skladu s primjenjivim državnim i/ili međunarodnim propisima.
  - Jasno označite ispitke i naznačite ispitke koji su namijenjeni za testiranje na HPV.

**UPUTE ZA UPOTREBU****Priprema testa – PRESERVACYT**

- Nalijepite naljepnicu s crtičnim kodom za ispitak na epruvetu za ispitak kompatibilnu sa sustavom NeuMoDx System.
- Postavite epruvetu označenu crtičnim kodom u nosač epruveta za ispitke i pobrinite se da uklonite čep prije postavljanja na sustav NeuMoDx System.
- Podijelite ispitak u alikvotne prema volumenima za uzorke u mediju **PreservCyt** definiranim u nastavku:
  - Nosač epruveta za ispitke (32 epruvete): promjera 11 – 14 mm i visine 60 – 120 mm; minimalni volumen punjenja = 400 µl
  - Nosač epruveta za ispitke (24 epruvete): promjera 14,5 – 18 mm i visine 60 – 120 mm; minimalni volumen punjenja = 850 µl
  - Nosač epruveta za ispitke malog volumena (32 epruvete): epruveta od 1,5 ml za mikrocentrifugu sa stožastim dnom; minimalni volumen punjenja = 250 µl

**Priprema testa – SUREPATH**

- Ispitak u mediju SurePath prethodno obradite volumenom pufera NeuMoDx Viral Lysis Buffer u omjeru 1:1 i temeljito promiješajte. Upotrijebite odgovarajući volumen kako biste postigli minimalni volumen ispitka definiran u nastavku.
- Inkubirajte pri 90 °C u trajanju od 20 minuta i ostavite da dosegne sobnu temperaturu prije nego što nastavite.
- Nalijepite naljepnicu s crtičnim kodom za ispitak na epruvetu za ispitak kompatibilnu sa sustavom NeuMoDx System.
- Postavite epruvetu označenu crtičnim kodom u nosač epruveta za ispitke i pobrinite se da uklonite čep prije postavljanja na sustav NeuMoDx System.
- Podijelite ispitak u alikvotne prema volumenima za uzorke u mediju **SurePath** definiranim u nastavku:
  - Nosač epruveta za ispitke (32 epruvete): promjera 11 – 14 mm i visine 60 – 120 mm; minimalni volumen punjenja = 450 µl
  - Nosač epruveta za ispitke (24 epruvete): promjera 14,5 – 18 mm i visine 60 – 120 mm; minimalni volumen punjenja = 800 µl
  - Nosač epruveta za ispitke malog volumena (32 epruvete): epruveta od 1,5 ml za mikrocentrifugu sa stožastim dnom; minimalni volumen punjenja = 300 µl

**Rad sustava NeuMoDx System**

Detaljnije upute potražite u korisničkim priručnicima za sustave NeuMoDx 288 i 96 Molecular System (br. dijelova 40600108 i 40600317)

- Učitajte nalog za test u sustav NeuMoDx System u skladu sa željenom vrstom ispitka.
  - Uzorci u mediju PreservCyt testiraju se definiranjem ispitka kao „Cytology” (Citologija).
  - Prethodno obrađeni uzorci u mediju SurePath testiraju se definiranjem ispitka kao „UserSpecified1”.Ako nije definirano u nalogu za test, prema zadanim se postavkama upotrebljava vrsta ispitka u mediju PreservCyt.
- Popunite jedan ili više nosača NeuMoDx System Test Strip Carrier(s) testnim trakama NeuMoDx HPV Test Strip(s) i s pomoću zaslona osjetljivog na dodir postavite nosač/e testnih traka u sustav NeuMoDx System.
- Ako vas softver sustava NeuMoDx System to zatraži, u nosače potrošnog materijala sustava NeuMoDx System dodajte potreban potrošni materijal i s pomoću zaslona osjetljivog na dodir postavite nosač/e u sustav NeuMoDx System.
- Ako vas softver sustava NeuMoDx System to zatraži, zamijenite reagense NeuMoDx Wash Reagent i NeuMoDx Release Reagent te prema potrebi ispraznite otpad od ispiranja, spremnik za biološki opasan otpad (samo za sustav NeuMoDx 288 Molecular System), koš za otpad za vrške (samo za sustav NeuMoDx 96 Molecular System) ili koš za biološki otpad (samo za sustav NeuMoDx 96 Molecular System).
- Postavite epruvetu/epruvete s ispitcima u nosač epruveta za ispitke i pobrinite se da uklonite čepove sa svih epruveta.
- Postavite nosač(e) epruveta za ispitke na policu za automatsko postavljanje i s pomoću zaslona osjetljivog na dodir postavite nosač(e) u sustav NeuMoDx System. To će pokrenuti obradu postavljenih ispitaka za identificiranje testove ako u sustavu postoji valjani nalog za test.

### OGRANIČENJA

1. Testna traka NeuMoDx HPV Test Strip može se upotrebljavati samo na sustavima NeuMoDx Systems.
2. Učinkovitost testne trake NeuMoDx HPV Test Strip utvrđena je za uporabu s uzorcima dobivenima iz cervikalnih ispitaka (strugotina) u mediju PreservCyt, SurePath ili sličnim citološkim medijima. Uporaba testne trake NeuMoDx HPV Test Strip s drugim izvorima nije procijenjena i radne značajke za druge vrste ispitaka ili medije za prikupljanje nisu poznate.
3. Jedino se ispitci u mediju SurePath prethodno obrađeni puferom Viral Lysis Buffer mogu upotrebljavati na sustavima NeuMoDx Molecular Systems. Čisti ispitci mogu dati nevažee ili manjkave rezultate.
4. Budući da detekcija HPV-a ovisi o količini tkiva prisutnoj u uzorku, pouzdani rezultati ovise o propisnom prikupljanju, rukovanju i pohrani ispitaka.
5. Pogrešni rezultati mogu se pojaviti zbog nepropisnog prikupljanja, rukovanja i pohrane ispitaka, tehničke pogreške ili pogrešne identifikacije epruvete za ispitke. Dodatno, lažno negativni rezultati javljaju se jer je broj virusnih čestica u uzorku niži od granice detekcije ispitivanja NeuMoDx HPV Assay.
6. Rad na sustavu NeuMoDx System ograničen je na osoblje obučeno za uporabu sustava NeuMoDx System.
7. Ako ne dođe do amplifikacije ciljne sekvence HPV-a i ciljne sekvence  $\beta$ -globina, prijavljuje se nevažee rezultat (Indeterminate (Neodređeno), No Result (Nema rezultata) ili Unresolved (Nerazriješeno)) te je potrebno ponoviti test.
8. Pozitivan rezultat ne naznačava nužno prisutnost vijabilnog HPV-a. Međutim, pozitivan rezultat upućuje na vjerojatnu prisutnost DNK HPV-a.
9. Delecije ili mutacije u konzerviranim regijama koje su ciljane ispitivanjem NeuMoDx HPV Assay mogu utjecati na detekciju i mogu dovesti do pogrešnih rezultata.
10. Rezultati ispitivanja NeuMoDx HPV Assay trebaju se upotrebljavati kao dodatak kliničkim opažanjima i ostalim informacijama koje su liječniku dostupne.
11. Preporučuje se dobra laboratorijska praksa, uključujući mijenjanje rukavica između rukovanja ispitcima pacijenata, kako bi se izbjegla kontaminacija.

### OBRADA REZULTATA

Dostupni rezultati mogu se pregledavati ili ispisivati s kartice „Results“ (Rezultati) u prozoru Results (Rezultati) na zaslonu osjetljivom na dodir sustava NeuMoDx System. Rezultate ispitivanja NeuMoDx HPV Assay automatski generira softver sustava NeuMoDx System primjenom algoritma odlučivanja i parametara za obradu rezultata navedenih u datoteci definicije ispitivanja NeuMoDx HPV (HPV Assay Definition File, HPV ADF). Rezultat ispitivanja NeuMoDx HPV Assay može se prijaviti kao Negative (Negativno), Positive (Pozitivno), Indeterminate (IND) (Neodređeno), No Result (NR) (Nema rezultata) ili Unresolved (UNR) (Nerazriješeno) na temelju statusa amplifikacije ciljnih sekvenci i kontrole obrade uzorka. Rezultati se prijavljuju na temelju algoritma odlučivanja u ADF-u, koji je sažet u nastavku u *tablici 1*.

Za svaku od ciljnih sekvenci utvrđeni su Ct pragovi koji su prikazani u *tablici 2* u nastavku radi usklađivanja s kliničkom značajnošću ispitivanja. Može doći do slučajeva u kojima se uočava amplifikacijske krivulja ciljne sekvence, ali je prijavljen rezultat Negative (Negativno). Ovo prijavljivanje u skladu je s kriterijima za obradu rezultata i graničnim vrijednostima koje je odobrila tvrtka NeuMoDx.

Rezultate prijavljene na testu NeuMoDx HPV Test liječnik mora procijeniti u kontekstu drugih nalaza.

**Tablica 1.** Sažetak algoritma odlučivanja ispitivanja za HPV

REZULTAT	HPV16	HPV18	HPV ostalo	KONTROLA OBRADE ( $\beta$ G)
POSITIVE (POZITIVNO)	AMPLIFIED (AMPLIFICIRANO)	N/A (N/P) <sup>^</sup>	N/A (N/P) <sup>^</sup>	N/A (N/P) <sup>^</sup>
POSITIVE (POZITIVNO)	N/A (N/P) <sup>^</sup>	AMPLIFIED (AMPLIFICIRANO)	N/A (N/P) <sup>^</sup>	N/A (N/P) <sup>^</sup>
POSITIVE (POZITIVNO)	N/A (N/P) <sup>^</sup>	N/A (N/P) <sup>^</sup>	AMPLIFIED (AMPLIFICIRANO)	N/A (N/P) <sup>^</sup>
NEGATIVE (NEGATIVNO)	NOT AMPLIFIED (NIJE AMPLIFICIRANO)	NOT AMPLIFIED (NIJE AMPLIFICIRANO)	NOT AMPLIFIED (NIJE AMPLIFICIRANO)	AMPLIFIED (AMPLIFICIRANO)
IND (NEODREĐENO)	NOT AMPLIFIED, System Error Detected, Sample Processing Completed (Nije amplificirano, Otkrivena pogreška sustava, Obrada uzorka završena)			
IND/NR* (NEODREĐENO / NEMA REZULTATA)	NOT AMPLIFIED, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Nije amplificirano, Otkrivena pogreška sustava, Obrada uzorka prekinuta)			
UNR (NERAZRIJEŠENO)	NOT AMPLIFIED, No System Errors Noted (NIJE AMPLIFICIRANO, Nema uočenih pogrešaka sustava)			

\* Oznaka No Result (Nema rezultata) prijavljuje se samo u inačicama softvera sustava NeuMoDx System 1.8 i novijima.

<sup>^</sup> N/A = Not Applicable (N/P = Nije primjenjivo)

**Tablica 2. Granične Ct vrijednosti za pozitivne rezultate**

REZULTAT	HPV16	HPV18	HPV ostalo	KONTROLA OBRADE (βG)
POSITIVE (POZITIVNO)	33	33	30	N/A (N/P)*

\* N/A = Not Applicable (N/P = Nije primjenjivo)

### Kontrola kvalitete

Lokalni propisi obično navode da je laboratorij odgovoran za postupke kontrole kojima se prati točnost i preciznost cijelog analitičkog postupka te da mora utvrditi broj, vrstu i učestalost primjene materijala za kontrolu testa s pomoću provjerenih specifikacija radnog učinka za nemodificirani, odobreni sustav testa.

### Korisnički definirane (vanjske) kontrole

- Potrebno je odabrati odgovarajuće korisnički definirane kontrole koje laboratorij mora odobriti u skladu s lokalnim smjernicama. Imajte na umu da korisnički definirane kontrole moraju zadovoljavati jednake prethodno navedene specifikacije za minimalni volumen kao i klinički uzorci, a koje se temelje na veličini nosača epruveta za ispitke.
- Kada obrađujete korisnički definirane kontrole, postavite označene kontrole u nosač epruveta za ispitke i s pomoću zaslona osjetljivog na dodir postavite nosač u sustav NeuMoDx System s police za automatsko postavljanje. Nakon definiranja sustav NeuMoDx System prepoznat će crtične kodove i započeti obradu kontrola.
- Preporučuje se da korisnici obrađuju po jedan komplet pozitivnih i negativnih korisnički definiranih kontrola svaka 24 sata.
- Pozitivan rezultat testiranja prijavljen za negativan korisnički definiran kontrolni uzorak može ukazivati na problem kontaminacije ispitka. Savjete za rješavanje problema potražite u *korisničkom priručniku za sustav NeuMoDx 288 ili 96 Molecular System*.
- Negativan rezultat prijavljen za pozitivan korisnički definiran kontrolni uzorak može ukazivati na problem povezan s reagensima ili sustavom NeuMoDx System. Savjete za rješavanje problema potražite u *korisničkom priručniku za sustav NeuMoDx 288 ili 96 Molecular System*.

### Kontrola obrade uzorka (unutarnja)

β-globin (βG) služi kao endogena unutarnja kontrola jer je prisutan u ispravno prikupljenim cervikalnim strugotinama. Ciljna sekvenca βG prolazi kroz cijeli postupak ekstrakcije nukleinske kiseline i PCR amplifikacije u stvarnom vremenu sa svakim uzorkom, te također funkcionira i kao provjera kvalitete uzorka. Početnice i proba specifične za βG uključene su u svaku testnu traku NeuMoDx HPV Test Strip, kao i početnice i probe za više ciljnih sekvenci HPV-a, što omogućuje detekciju βG s ciljnom sekvencom DNK HPV-a (ako je prisutna) putem multipleksnog PCR-a. Detekcija amplifikacije βG softveru sustava NeuMoDx System omogućava praćenje učinkovitosti postupaka prikupljanja ispitka, ekstrakcije DNK i PCR amplifikacije.

### Kontrole NeuMoDx System(s) Controls

Sustavi NeuMoDx System izvode razne unutarnje kontrole instrumenta na sljedeći način:

- Prije PCR-a sustav NeuMoDx System automatski provodi „FILL CHECK“ (PROVJERA NAPUNJENOSTI) kako bi osigurao da je PCR komora napunjena otopinom te da sadržava odgovarajuću količinu fluorescentne probe.
- Softver sustava NeuMoDx System kontinuirano prati senzore i aktuatora na sustavu kako bi osigurao siguran i učinkovit rad sustava.
- Više načina uklanjanja pogrešaka tekućina provodi se aktivnim nadzorom postupaka aspiracije i pipetiranja kako bi se osiguralo da sustav može sigurno i učinkovito završiti obradu svih uzoraka ili pružiti odgovarajuću kôd pogreške.
- Sustav NeuMoDx System opremljen je automatskom opcijom Rerun (Ponovna obrada) / Repeat (Ponavlanje testa) koju krajnji korisnik može odabrati kako bi osigurao da se rezultat INVALID (NEVAŽEĆE) automatski ponovno obradi kako bi se minimizirala kašnjenja u izvještavanju rezultata.

### Nevažeći rezultati

Ako ispitivanje NeuMoDx HPV Assay koje se izvodi na sustavu NeuMoDx System ne uspije dati valjani rezultat, prijavljuje se kao Indeterminate (IND) (Neodređeno), Unresolved (UNR) (Nerazriješeno) ili No Result (Nema rezultata) (NR) ovisno o vrsti pogreške koja se pojavila.

Rezultat IND (Neodređeno) prijavljuje se ako se tijekom obrade uzorka detektira pogreška sustava NeuMoDx System. U slučaju da je prijavljen rezultat IND (Neodređeno), preporučuje se ponovno testiranje.

Rezultat UNR (Nerazriješeno) prijavljuje se ako nije detektirana valjana amplifikacija DNK HPV-a ili βG, što ukazuje na moguću pogrešku reagensa ili na prisutnost inhibitora. Ako je prijavljen rezultat UNR (Nerazriješeno), kao prvi korak preporučuje se ponovno testiranje. U slučaju da ponovno testiranje ne uspije, može se upotrijebiti razrjeđenje ispitka kako bi se ublažili učinci inhibicije uzorka.

Rezultat NR (Nema rezultata) prijavljuje se ako je obrada uzorka prekinuta zbog pogreške sustava. U slučaju da je prijavljen rezultat NR (Nema rezultata), preporučuje se ponovno testiranje. Ta se oznaka prijavljuje samo u inačicama softvera NeuMoDx 1.8 i novijima. U starijim se inačicama softvera ta pogreška prijavljuje kao IND (Neodređeno).

### RADNE ZNAČAJKE

#### Analitička osjetljivost

Granica detekcije (Limit of Detection, LoD) utvrđena je primjenom serije serijskog trostrukog razrjeđenja g-bloka (dvolančani blokovi genomskog DNK) koji sadržava regiju amplikona svakog ciljanog tipa HPV-a (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67, 68) i β-globina. Svaka šesteročlana serija razrjeđenja pripravljena je na pozadini od 2000 ng/ml humanog DNK (osim za β-globin), a koncentracija je testirana 45 puta. Rezultati ispitivanja u kojemu je granica detekcije (Limit of Detection, LoD) određena primjenom analize stope uspješnosti od 95 % prikazani su u *tablici 3* u nastavku.

**Tablica 3.** Granica detekcije (Limit of Detection, LoD) ispitivanja NeuMoDx HPV Assay za 15 tipova hrHPV-a i gen β-globin

Ciljna sekvenca	Granica detekcije (kopije/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-globin	74.074

#### Analitička specifičnost

Analitička specifičnost ispitivanja NeuMoDx HPV Assay utvrđena je usporedbom s DNK neciljanih genoma HPV-a (*tablica 4.*) pri  $1 \times 10^6$  kopija/ml te usporedbom s potencijalno patogenim vaginalnim mikroorganizmima prikazanim u *tablici 5.* pri  $1 \times 10^6$  CFU/ml ili  $1 \times 10^5$  PFU/ml. Ispitivanje nije pokazalo nikakvu križnu reaktivnost s neciljanim tipovima HPV-a 6, 11, 26, 30, 34, 53, 69, 73, 82, 85, niti s mikroorganizmima. Pozitivni rezultati za „HPV Other“ (HPV ostalo) pronađeni su s tipom HPV 70, vjerojatno zbog visoke homologije sekvenci između tipova 39, 68 i 70, a naknadno ispitivanje titracije pokazala je kako bi taj tip moguće otkriti pri  $\geq 4,12 \times 10^6$  kopija/ml. HPV 70 smatra se vjerojatno karcinogenim na temelju epidemioloških, filogenetskih i funkcionalnih studija.

**Tablica 4.** Neciljani tipovi HPV-a za koje je procijenjena križna reaktivnost

Neciljani genotipovi HPV-a	
HPV 6	HPV 69
HPV 11	HPV 70
HPV 26	HPV 73
HPV 30	HPV 82
HPV 34	HPV 85
HPV 53	

**Tablica 5.** Mikroorganizmi za koje je procijenjena križna reaktivnost

Mikroorganizam		
Adenovirus*	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	Epstein-Barrov virus	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus agalactiae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Fusobacterium spp.</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Virus herpesa simplex 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	Virus herpesa simplex 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>	

\* testirano pri  $1 \times 10^5$  (TCID<sub>50</sub>)/ml

\*\*provedeno in silico analizom

### Analitička obnovljivost

Analitička obnovljivost ispitivanja NeuMoDx HPV Assay procijenjena je primjenom istog skupa podataka koji je upotrijebljen za ispitivanje granice detekcije. Uzorci su testirani pri granici detekcije (Limit of Detection, LoD) od 3 X na 3 različita sustava NeuMoDx Molecular Systems, 1 sustav N288 i 2 sustava N96 uz primjenu 3 različite serije testnih traka NeuMoDx HPV Test Strips. Podaci su pokazali odličnu sveukupnu obnovljivost, s maksimalnim koeficijentom varijacije (Coefficient of Variation, CV) od 3,0 % za svaki od testiranih genotipova kako je prikazano u *tablici 6*. Osim toga, taj je skup podataka upotrijebljen za dokazivanje obnovljivosti između serija reagensa i sustava kako je prikazano u *tablici 7*.

**Tablica 6.** Testirani genotipovi hrHPV-a

Ciljna sekvenca	Ciljna koncentracija	kopija/ml	Stopa uspješnosti	Sveukupni CV
β-globin	3 X 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 %

**Tablica 7.** Obnovljivost između serija i između sustava

Ciljna sekvenca	CV - varijabilnost serija			CV - varijacije sustava		
	Serija 1	Serija 2	Serija 3	Sustav 1 (N96)	Sustav 2 (N288)	Sustav 3 (N96)
β-globin	1,5 %	2,4 %	1,0 %	1,7 %	2,4 %	1,0 %
HPV 16	0,9 %	1,1 %	1,6 %	1,8 %	1,0 %	0,9 %
HPV 18	1,2 %	1,6 %	0,9 %	1,1 %	1,0 %	1,5 %
HPV 31	1,3 %	1,5 %	1,1 %	1,1 %	1,2 %	1,1 %
HPV 33	2,1 %	1,4 %	1,2 %	0,9 %	2,5 %	0,9 %
HPV 35	0,7 %	0,7 %	0,9 %	0,9 %	0,7 %	0,8 %
HPV 39	1,6 %	1,6 %	0,8 %	1,1 %	1,9 %	0,9 %
HPV 45	1,5 %	1,4 %	1,7 %	1,4 %	1,6 %	1,1 %
HPV 51	2,1 %	1,2 %	1,9 %	1,1 %	2,3 %	1,4 %
HPV 52	2,2 %	4,0 %	2,5 %	1,5 %	3,9 %	1,6 %
HPV 56	1,4 %	1,5 %	1,1 %	0,6 %	1,5 %	1,3 %
HPV 58	1,3 %	3,2 %	2,2 %	2,1 %	1,8 %	3,0 %
HPV 59	2,3 %	2,4 %	2,7 %	1,1 %	2,3 %	0,9 %
HPV 66	2,5 %	1,5 %	0,8 %	1,3 %	2,3 %	1,3 %
HPV 67	1,1 %	1,2 %	1,8 %	0,6 %	2,1 %	1,1 %
HPV 68	1,4 %	3,1 %	3,8 %	1,5 %	3,9 %	1,9 %



### Interferirajuće tvari

Surogat uzorcima PreservCyt dodani su rekombinantni bakulovirus koji uključuje regije amplicona HPV-a 16, 18, 51 i  $\beta$ -globina pri 1000 kopija/ml te tvari navedene u *tablici 8*. Nijedan od agensa nije imao značajan inhibicijski učinak na radni učinak ispitivanja.

**Tablica 8.** Testirane potencijalno interferirajuće tvari

	Tvar	Koncentracija
Endogeni	Puna krv (humana)	1 % (v/v)
	Leukociti	10 <sup>6</sup> stanica/ml
	Mucin	1 % (v/v)
Egzogeni	Irigator	1 % (v/v)
	Krema protiv gljivica	1 % (w/v)
	Spermicid	1 % (w/v)
	Vaginalni lubrikant	1 % (w/v)
	Sprej za intimno područje	1 % (v/v)
	Kontracepcijska pjena	1 % (w/v)

### Stabilnosti uzoraka na sustavu

Kontrola rekombinantnog bakulovirusa koja sadržava ciljane sekvence za HPV 16, 18, 51 i  $\beta$ -globin dodana je u medij za prikupljanje SurePath ili PreservCyt pri koncentraciji od ~3 x LOD cp/ml te je obrađena s pomoću ispitivanja NeuMoDx HPV Assay. Na kraju obrade sve su epruvete s pozitivnim i negativnim ispitnicima ostavljene na radnoj površini sustava 4, 8 i 24 sata, a zatim ponovno obrađene. Očekivani rezultat za sve vremenske točke bio je POSITIVE (POZITIVNO) za sve citološke ispitke u koje su dodane ciljane sekvence te NEGATIVE (NEGATIVNO) (na sve ciljane sekvence) za citološke ispitke u koje nije dodana ciljna sekvenca. Potpuna podudarnost s očekivanim rezultatom uočena je u točki od 24 sata, što ukazuje na 24-satnu stabilnost testiranja na sustavu ispitivanjem NeuMoDx HPV Assay. Sažetak rezultata nalazi se u *tablici 9* u nastavku. Kod uzoraka u mediju PreservCyt zabilježeno je isparavanje do 20 % kada su se oni čuvali na sustavu 24 sata, ali ono nije utjecalo na detekciju ciljnih sekvenci na testiranoj razini.

**Tablica 9.** Sažetak podataka o stabilnosti uzoraka na sustavu

Stabilnost ispitaka na sustavu	Ciljna sekvenca	PreservCyt		SurePath	
		T <sub>0</sub>	24 sata	T <sub>0</sub>	24 sata
		% slaganja	% slaganja	% slaganja	% slaganja
Pozitivan komplet	HPV 16	100 %	100 %	100 %	100 %
	HPV 18	100 %	100 %	100 %	100 %
	HPV ostalo	100 %	100 %	100 %	100 %
	$\beta$ -globin	100 %	100 %	100 %	100 %
Negativan komplet	Negativna (samo $\beta$ -globin)	100 %	100 %	100 %	100 %

### Klinički radni učinak –medij za prikupljanje PreservCyt

Klinička osjetljivost i specifičnost ispitivanja NeuMoDx HPV Assay za cervikalnu intraepitelnu neoplaziju 2. stupnja ili višeg (CIN2+) u cervikalnim ispitnicima prikupljenim u medij PreservCyt procijenjene su analizom neinferiornosti u odnosu na referentno ispitivanje (tj. visokorizični HPV GP5+/6+-PCR-EIA) u skladu s međunarodnim smjernicama za zahtjeve za HPV testove namijenjene probiru raka vrata maternice.<sup>16</sup> Primjenom oblika ispitivanja s kontrolom slučaja testirano je 67 uzoraka prikupljenih od žena u dobi od 30 godina ili više s histološki potvrđenim CIN2+ (tj. slučajevi; *tablica 10*). Za kliničku specifičnost testirana su 823 uzastopno prikupljena uzorka citologije na bazi tekućine dobivena od populacije žena za probir s normalnom citologijom i bez dokaza o postojanju CIN2+ unutar 2 godine od kontrole (tj. kontrole). Sveukupna stopa uspješnosti s ispitivanjem NeuMoDx HPV Assay iznosila je 99,4 % (818/823), kako je prikazano u *tablici 11*. Klinička osjetljivost ispitivanja NeuMoDx HPV Assay za CIN2+ iznosila je 92,5 % (62/67; interval pouzdanosti od 95 % 83,3 – 96,9), a klinička specifičnost za CIN2+ iznosila je 95,6 % (782/818; interval pouzdanosti od 95 %, 92,2 – 97,6), pri čemu su obje neinferiorne u odnosu na vrijednosti referentnog ispitivanja GP5+/6+-PCR-EIA ( $P = 0,02$  i  $P < 0,0001$ , redom).

**Tablica 10.** Rezultati kliničke osjetljivosti za uzorke prikupljene od žena u dobi od 30+ godina s potvrđenim CIN2+

Referentni test	Ispitivanje NeuMoDx HPV Assay		
	POZ.	NEG.	UKUPNO
POZ.	61	2	63
NEG.	1	3	4
UKUPNO	62	5	67
Klinička osjetljivost ispitivanja NeuMoDx HPV Assay: 92,5 % (95 %-tni CI od 83,3 – 96,9)			

**Tablica 11.** Rezultati kliničke specifičnosti za uzorke prikupljene od žena s normalnom citologijom i bez potvrđenog CIN2+

Referentni test	Ispitivanje NeuMoDx HPV Assay		
	POZ.	NEG.	UKUPNO
POZ.	28	19	47
NEG.	8	763	771
UKUPNO	36	782	818
Klinička specifičnost ispitivanja NeuMoDx HPV Assay: 95,6 % (95 %-tni CI od 92,2 – 97,6)			

Za žene mlađe od 30 godina testirana su 173 uzorka citologije na bazi tekućine prikupljena od žena u ambulantama. Stopa uspješnosti ispitivanja NeuMoDx HPV Assay iznosila je 98,3 % (170/173) (tablica 12.). Osjetljivost ispitivanja NeuMoDx HPV Assay na CIN3+ iznosila je 91,1 % (41/45; interval pouzdanosti od 95 %, 78,6 – 96,6), a specifičnost za CIN3+ iznosila je 51,2 % (64/125; interval pouzdanosti od 95 %, 42,5 – 60,0). Vrijednosti relativne osjetljivosti i specifičnosti u usporedbi s testom QIAScreen HPV PCR Test iznosile su redom 1,03 i 1,10.

**Tablica 12.** Radni učinak ispitivanja NeuMoDx HPV Assay u žena u dobi od < 30 godina raslojen prema histologiji i test QIAScreen HPV PCR Test

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

Za žene s ASC-US-om ili LSIL-om, klinička osjetljivost za CIN2+ iznosila je 91,7 % (11/12; interval pouzdanosti od 95 %, 58,7 – 98,8), a klinička specifičnost za CIN2+ iznosila je 75,0 % (15/20; interval pouzdanosti od 95 %, 52,2 – 89,2) (tablica 13).

**Tablica 13.** Radni učinak ispitivanja NeuMoDx HPV Assay u žena s citologijom ASC-US/LSIL raslojen prema histologiji i rezultati referentnog testa

Histologija	Referentno ispitivanje	Ispitivanje NeuMoDx HPV Assay		
		NEG.	POZ.	UKUPNO
<=CIN1	NEG.	13	-	13
	POZ.	2	5	7
	UKUPNO	15	5	20
CIN2	NEG.	-	-	-
	POZ.	-	6	6
	UKUPNO	-	6	6
CIN3+	NEG.	1	-	1
	POZ.	-	5	5
	UKUPNO	1	5	6
SVEUKUPNO	NEG.	14	-	14
	POZ.	2	16	18
	UKUPNO	16	16	32

### Klinički radni učinak – medij za prikupljanje SurePath

Klinička osjetljivost i specifičnost ispitivanja NeuMoDx HPV Assay za detekciju CIN2+ utvrđene su s pomoću 948 ispitaka cervikalnih strugotina prikupljenih u medij za prikupljanje SurePath primjenom oblika ispitivanja s kontrolom slučaja. Relativna osjetljivost i specifičnost za CIN2+ ispitivanja NeuMoDx HPV Assay u usporedbi s klinički potvrđenim referentnim ispitivanjem (npr. ispitivanje rizika od HPV-a) utvrđene su na temelju statističke metode „ocjenjivanja neinferiornosti“.

Klinička osjetljivost utvrđena je s pomoću 106 uzoraka prikupljenih od žena kojima jedijagnosticiran histološki potvrđen CIN2+ (tj. slučajevi). Prosječna dob žena iznosila je 38 (raspon 30 – 58) godina. Utvrđeno je da osjetljivost ispitivanja NeuMoDx HPV Assay iznosi 92,5 % (98/106; interval pouzdanosti od 95 %: 85,6 – 96,2) te da je jednaka onoj referentnog ispitivanja rizika od HPV-a (*tablica 14*). Relativna osjetljivost ispitivanja NeuMoDx HPV Assay u usporedbi s ispitivanjem rizika od HPV-a iznosila je 1,00 s vrijednosti ocjenjivanja neinferiornosti  $P = 0,0009$ .

Klinička specifičnost utvrđena je na temelju 842 uzorka prikupljena na temelju tekućinske citologije (SurePath) dobivena od populacije žena za probir s normalnom citologijom i bez dokaza o postojanju CIN2+ unutar 2 godine od kontrole. Prosječna dob žena iznosila je 43 (raspon 30 – 59) godina i 98,6 % (935/948) uzoraka na testu je bilo valjano. Specifičnost ispitivanja NeuMoDx HPV Assay iznosila je 93,5 % (775/829; interval pouzdanosti od 95 %: 91,6 – 95,0), a specifičnost referentnog ispitivanja rizika od HPV-a iznosila je 91,9 % (762/829; interval pouzdanosti od 95 %: 89,9 – 93,6) (*tablica 15*). Relativna specifičnost ispitivanja NeuMoDx HPV Assay u usporedbi s ispitivanjem rizika od HPV-a iznosila je 1,02 s vrijednosti ocjenjivanja neinferiornosti  $P < 0,0001$ .

**Tablica 14.** Rezultati kliničke osjetljivosti za uzorke prikupljene od žena s potvrđenim CIN2+ u mediju za prikupljanje SurePath

Referentni test	Ispitivanje NeuMoDx HPV Assay		
	POZ.	NEG.	UKUPNO
POZ.	97	1	98
NEG.	1	7	8
UKUPNO	98	8	106
Klinička osjetljivost ispitivanja NeuMoDx HPV Assay: 92,5 % (95 %-tni CI od 85,6 – 96,2)			

**Tablica 15.** Rezultati kliničke specifičnosti za uzorke prikupljene od žena s normalnom citologijom i bez potvrđenog CIN2+ u mediju za prikupljanje SurePath

Referentni test	Ispitivanje NeuMoDx HPV Assay		
	POZ.	NEG.	UKUPNO
POZ.	48	6	54
NEG.	19	756	775
UKUPNO	67	775	842
Klinička specifičnost ispitivanja NeuMoDx HPV Assay: 93,5 % (95 %-tni CI od 91,6 – 95,0)			

### Klinička obnovljivost

Intralaboratorijska obnovljivost i interlaboratorijsko podudaranje testa na kliničkim ispiscima prikupljenim u medij PreservCyt procijenjeni su u skladu s međunarodnim smjericama za zahtjeve za HPV testove namijenjene probiru raka vrata maternice.<sup>16</sup> Intralaboratorijska obnovljivost na cervikalnim ispiscima tijekom trajanja ispitivanja iznosila je 96,0 % (484/504; interval pouzdanosti od 95 %, 94,3 – 97,4) s kapa vrijednošću ( $\kappa$ ) od 0,90 (tablica 16.). Rezultati tih momenata testiranja zatim su procijenjeni kako bi se utvrdilo podudaranje s rezultatima na drugoj lokaciji testiranja, uz podudaranje među laboratorijima od 96,4 % (486/504; interval pouzdanosti od 95 %, 94,8 – 97,7) s vrijednošću  $\kappa=0,91$  i 94,4 % (476/504; interval pouzdanosti od 95 %, 92,5 – 96,1) s vrijednošću  $\kappa=0,86$  za prvi i drugi moment testiranja redom (tablica 17.).

**Tablica 16.** Intralaboratorijska obnovljivost ispitivanja NeuMoDx HPV Assay tijekom vremena

Rezultat testa s ispitivanjem NeuMoDx HPV Assay 1	Rezultat testa s ispitivanjem NeuMoDx HPV Assay 2		
	NEG.	POZ.	UKUPNO
NEG.	347	13	360
POZ.	7	137	144
UKUPNO	354	150	504
Obnovljivost = 96,0 % (interval pouzdanosti od 95 % 94,3 – 97,4); $\kappa=0,90$			

**Tablica 17.** Interlaboratorijsko podudaranje ispitivanja NeuMoDx HPV Assay

Vanjski test s ispitivanjem NeuMoDx HPV Assay	Ispitivanje NeuMoDx HPV Assay – Rezultat internog testa 1			Ispitivanje NeuMoDx HPV Assay – Rezultat internog testa 2		
	NEG.	POZ.	UKUPNO	NEG.	POZ.	UKUPNO
NEG.	355	13	368	347	21	368
POZ.	5	131	136	7	129	136
UKUPNO	360	144	504	354	150	504
Podudarnost od 96,4 % (interval pouzdanosti od 95 % 94,8 – 97,7); $\kappa=0,91$			Podudarnost od 94,4 % (interval pouzdanosti od 95 % 92,5 – 96,1); $\kappa=0,86$			

### REFERENCE

1. Walboomers J, Jacobs M, Manos M, Bosch F, Kummer J, Shah K, Snijders P, Peto J, Meijer C, Munoz N. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J.Pathol.* 1999;189(1):12-9.
2. Munoz N, Bosch F, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah K, Snijders P, Meijer C. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N.Engl.J.Med.* 2003;348(6):518-27.
3. Bosch F, Lorincz A, Munoz N, Meijer C, Shah K. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J.Clin.Pathol.* 2002;55(4):244-65.
4. Snijders P, Steenbergen R, Heideman D, Meijer C. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. *J.Pathol.* 2006;208(2):152-64.
5. Vinokurova S, Wentzensen N, Kraus I, Klaes R, Driesch C, Melsheimer P, Kisseljev 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, 5<sup>th</sup> edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
18. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

### ZAŠTITNI ZNAKOVI

NeuMoDx™ i NeuDry™ su zaštitni znakovi tvrtke NeuMoDx Molecular, Inc.

Hamilton® je registrirani zaštitni znak tvrtke Hamilton Company.

PreservCyt® je registrirani zaštitni znak tvrtke Hologic, Inc.


SurePath™ je zaštitni znak tvrtke Becton Dickinson (BD).


Svi drugi nazivi proizvoda, zaštitni znakovi i registrirani zaštitni znakovi koji se mogu pojaviti u ovome dokumentu u vlasništvu su svojih vlasnika.

### LEGENDA SIMBOLA


**R only** Za uporabu samo uz recept


 Proizvođač


 Medicinski proizvod za *in vitro* dijagnostiku


 Ovlašteni predstavnik u Europskoj zajednici

 Kataloški broj


 Kôd šarže


 Upotrijebiti do

 Temperaturno ograničenje

 Nije za ponovnu uporabu

 Sadrži dovoljno za <n> testova

 Pročitajte upute za upotrebu

 Oprez

 Biološke opasnosti

 Oznaka CE



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

Naručitelj (Australija):  
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



Tehnička podrška / izvještaj o kontroli sigurnosti: [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

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