

REF 617007 NeuMoDx™ HPV Test Strip

R only

ATTENZIONE: solo per l'esportazione negli Stati Uniti

IVD Per uso diagnostico *in vitro* con NeuMoDx 288 e NeuMoDx 96 Molecular SystemLa versione elettronica è disponibile all'indirizzo www.qiagen.com/neumodx-ifu

Per istruzioni dettagliate, fare riferimento al Manuale dell'operatore del NeuMoDx 288 Molecular System; P/N 40600108

Per istruzioni dettagliate fare riferimento al Manuale dell'operatore del NeuMoDx 96 Molecular System; P/N 40600317

USO PREVISTO

Il NeuMoDx HPV Assay, come eseguito sul NeuMoDx 96 Molecular System e sul NeuMoDx 288 Molecular System (NeuMoDx System), è un esame diagnostico *in vitro* di amplificazione dell'acido nucleico basato su PCR real-time, rapido e automatizzato per il rilevamento qualitativo dei tipi di DNA ad alto rischio di papillomavirus umano (Human Papillomavirus, HPV) nei campioni di cervice. Il test identifica in modo specifico i tipi HPV16 e HPV18, rilevando, allo stesso tempo, gli altri tipi ad alto rischio (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 e 68) a livelli di infezione clinicamente rilevanti. I campioni cervicali che possono essere testati con il NeuMoDx HPV Assay includono campioni cervicali raccolti da un medico utilizzando una spazzola/spazzolina cervicale conservati in PreservCyt® (HOLOGIC) e SurePath™ (BD) per citologia liquida. L'esame è destinato a essere utilizzato come test principale nello screening di donne a partire da 21 anni per il rischio pre-cancro o cancro della cervice per determinare la necessità di rinvio alla colposcopia o ad altre procedure di follow-up e come test di follow-up per le donne in cui il pap test abbia rilevato cellule squamose atipiche di significato incerto (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) o lesione intraepiteliale squamosa di basso grado (Low-grade Squamous Intra-epithelial Neoplasia, LSIL) per determinare la necessità di colposcopia o altre procedure di follow up. Tali informazioni, insieme alla valutazione dell'anamnesi citologica da parte del medico, ad altri fattori di rischio e alle linee guida professionali, possono essere utilizzate per guidare la gestione del paziente.

Il prodotto è destinato a essere utilizzato da utenti professionisti, come tecnici e personale di laboratorio, con formazione nelle procedure diagnostiche *in vitro* e nelle tecniche biologiche molecolari.

SOMMARIO E SPIEGAZIONI

Il cancro alla cervice e le lesioni che lo precedono (neoplasia intraepiteliale cervicale (Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN)) sono causate da un'infezione persistente con un tipo di papillomavirus umano (Human Papillomavirus, HPV) ad alto rischio.¹⁻³ L'HPV appartiene alla famiglia dei Papillomaviridae, dei piccoli virus del DNA a doppio filamento. Il genoma circolare è delle dimensioni di circa 7,9 chilobasi. Sono stati identificati oltre 100 tipi di HPV, di cui alcuni tipi di HPV, noti come HPV ad alto rischio (High-Risk HPV, hrHPV) come l'HPV 16 e 18, sono associati all'induzione di lesioni delle mucose che possono diventare maligne. Il genoma virale contiene geni espressi precocemente (Early, E) e tardivamente (Late, L) che codificano le proteine necessarie rispettivamente per le fasi precoci e tardive del ciclo di vita dell'HPV. I prodotti dei geni E6 ed E7 dei tipi hrHPV hanno proprietà cancerogene e sono necessari per l'evoluzione maligna della cellula ospite.⁴ La progressione maligna spesso è associata all'integrazione virale nel genoma della cellula ospite.⁵ L'integrazione ha come risultato l'interruzione del genoma virale in una regione che può estendersi dalla fase di lettura aperta E1 alla L1.⁶ Ciò può avere delle conseguenze per l'amplificazione del DNA virale mediante PCR in queste regioni. Dal momento che non è solo l'inizializzazione ma anche la manutenzione del fenotipo trasformato a dipendere dall'espressione continua delle oncoproteine virali, la regione virale E6/E7 viene conservata in modo invariabile nei genomi virali integrati nei cancri della cervice.^{6,7,8}

Il cancro della cervice è una complicanza rara di un'infezione da papillomavirus umano (Human Papillomavirus, HPV); il rischio in termini di durata di un'infezione da hrHPV è stimato intorno all'80% e la grande maggioranza delle infezioni viene eliminata dal sistema immunitario ospite e non dà luogo a lesioni.⁹ Dopo l'eliminazione dell'infezione da HPV, le lesioni CIN in genere regrediscono.¹⁰

Il test del DNA dell'HPV fornisce una migliore protezione contro il cancro alla cervice e le lesioni che precedono la neoplasia CIN rispetto all'analisi citomorfologica (ad esempio, il pap test) nei campioni di cervice dello screening principale nelle donne a partire dall'età minima di 30 anni e nel triage delle donne a partire dall'età minima di 21 anni con ASC-US (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) o citologia cervicale LSIL.¹¹⁻¹⁵ Lo screening principale basato sulla cervice viene implementato in diversi paesi del mondo e sono state pubblicate linee guida internazionali per i requisiti di test del DNA dell'HPV.¹⁶ Il NeuMoDx HPV Assay mira a una regione conservata all'interno del gene E7 del genoma dell'HPV, superando così i potenziali risultati falsi negativi al momento dell'integrazione virale nel genoma ospite.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il NeuMoDx HPV Assay combina l'estrazione automatizzata, l'amplificazione e la rilevazione del DNA tramite PCR real-time. I campioni di cervice vengono raccolti nella soluzione per citologia liquida e quindi trasferiti a una provetta per campioni secondaria compatibile, dotati di codice a barre e collocati nel NeuMoDx System. Il NeuMoDx System aspira automaticamente un'aliquota del campione per miscelarlo con NeuMoDx Lysis Buffer 2 e gli agenti di estrazione contenuti nella NeuMoDx Extraction Plate per iniziare l'elaborazione. Il NeuMoDx System automatizza e integra l'estrazione e la concentrazione di DNA, la preparazione dei reagenti e l'amplificazione/il rilevamento dell'acido nucleico delle sequenze target utilizzando la PCR real-time. Il DNA della β -globina (β G) presente in ogni campione raccolto in modo corretto serve da controllo del processo del campione endogeno e aiuta a monitorare la presenza di sostanze inibitorie nonché eventuali problemi di sistema, processo o reagente. Una volta caricato il campione e i materiali di consumo necessari sul NeuMoDx System non è necessario alcun intervento dell'operatore.

Il NeuMoDx System esegue automaticamente la lisi, l'estrazione del DNA e la rimozione degli inibitori. Gli acidi nucleici rilasciati vengono catturati da microsferi paramagnetiche. Le particelle, con l'acido nucleico legato, sono caricate nella NeuMoDx Cartridge, dove gli elementi non legati vengono rimossi tramite lavaggio con NeuMoDx Wash Reagent. Il DNA legato viene quindi eluito utilizzando il NeuMoDx Release Reagent. Il

NeuMoDx System utilizza quindi il DNA eluito per reidratare i reagenti di amplificazione NeuDry™ di proprietà contenenti tutti i componenti necessari per 40 cicli di amplificazione dei 15 target HPV (se presenti) nonché del target della β-globina. Ciò consente l'amplificazione e il rilevamento simultanei del target e delle sequenze di DNA di controllo. Dopo la ricostituzione dei reagenti PCR essiccati, il NeuMoDx System dispensa la miscela pronta per la PCR in una camera PCR (per campioni) della NeuMoDx Cartridge. L'amplificazione e il rilevamento delle sequenze di controllo e target (se presenti) si verificano nella camera PCR. La NeuMoDx Cartridge è progettata per contenere l'amplicone dopo la PCR, eliminando in pratica il rischio della contaminazione post-amplificazione.

I target amplificati vengono rilevati in tempo reale utilizzando la chimica delle sonde a idrolisi (comunemente nota come chimica TaqMan®) che si avvale di molecole di sonde oligonucleotidiche fluorogeniche specifiche per gli ampliconi dei rispettivi target. Le sonde TaqMan sono costituite da un fluoroforo legato covalentemente all'estremità 5' della sonda oligonucleotidica e da un quencher all'estremità 3'. Mentre la sonda è intatta, il fluoroforo e il quencher sono in prossimità, consentendo alla molecola quencher di sopprimere la fluorescenza emessa dal fluoroforo tramite FRET (Förster Resonance Energy Transfer).

Le sonde TaqMan sono progettate in modo tale da eseguire l'annealing all'interno di una regione del DNA amplificata da un set specifico di primer. Quando la Taq DNA polimerasi estende il primer e sintetizza il nuovo filamento, l'attività di esonucleasi 5'-3' della Taq DNA polimerasi degrada la sonda che ha eseguito l'annealing allo stampo. La degradazione della sonda rilascia il fluoroforo e spezza la prossimità con il quencher, superando quindi l'effetto di smorzamento dovuto al FRET e consentendo la rilevazione del fluoroforo. Il segnale di fluorescenza risultante rilevato nel termociclatore del NeuMoDx System per PCR è direttamente proporzionale al fluoroforo rilasciato e può essere correlato alla quantità di target presente.

Una sonda TaqMan etichettata con un fluoroforo all'estremità 5' e un quencher scuro all'estremità 3' viene utilizzata per rilevare l'HPV 16 (470/510 nm), l'HPV 18 (625/660 nm) e i restanti tipi ad alto rischio (High Risk, HR) significativi dal punto di vista clinico ("HPV Other" (HPV diverso); 530/555 nm). Per il rilevamento della β-globina, la sonda TaqMan viene etichettata con un colorante fluorescente alternativo (585/610 nm) all'estremità 5' e un quencher scuro all'estremità 3'. Il software del NeuMoDx System monitora il segnale fluorescente emesso dalle sonde TaqMan alla fine di ogni ciclo di amplificazione. Quando l'amplificazione è completa, il software del NeuMoDx System analizza i dati e riporta un risultato (POSITIVE (POSITIVO)/NEGATIVE (NEGATIVO)/INDETERMINATE (INDETERMINATO)/UNRESOLVED (IRRISOLTO)/NO RESULT (NESSUN RISULTATO)).

REAGENTI/MATERIALI DI CONSUMO

Materiali in dotazione

REF	Contenuto	Unità per confezione	Test per unità	Test per confezione
617007	NeuMoDx HPV Test Strip <i>Reagenti PCR essiccati contenenti sonda e primer TaqMan® specifici per HPV e βG</i>	6	16	96

Materiali necessari ma non in dotazione (disponibili separatamente da NeuMoDx)

REF	Contenuto
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Particelle paramagnetiche essiccate, enzima litico e controllo della 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	Puntali Hamilton® CO-RE / CO-RE II (300 µL) con filtri
235905	Puntali Hamilton CO-RE / CO-RE II (1000 µL) con filtri

*Richiesto per l'elaborazione di campioni SurePath pretrattati

Strumentazione richiesta

NeuMoDx 288 Molecular System [RIF 500100] o NeuMoDx 96 Molecular System [RIF 500200]

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- La NeuMoDx HPV Test Strip è destinata all'uso diagnostico *in vitro* solo con i NeuMoDx System.
- Non usare i reagenti o i materiali di consumo dopo la data di scadenza indicata.
- Non utilizzare alcun reagente se il sigillo di sicurezza è rotto o se la confezione risulta danneggiata all'arrivo.
- Non utilizzare i materiali di consumo o i reagenti se il sacchetto di protezione appare aperto o rotto all'arrivo.

- Il volume minimo del campione dell'aliquota secondaria dipende dalle dimensioni della provetta/dal portaprovette per campioni come definiti di seguito. Un volume al di sotto del minimo specificato può generare un errore "Quantity Not Sufficient" (Quantità non sufficiente).
- L'uso di campioni conservati a temperature non corrette oppure oltre i tempi di stoccaggio specificati può produrre risultati non validi o errati.
- Solo i campioni SurePath pretrattati con il Viral Lysis Buffer possono essere utilizzati sui NeuMoDx Molecular System. I campioni non diluiti possono produrre risultati non validi o non ottimali.
- Negli studi di convalida eseguiti per valutare la stabilità del campione sul sistema è stata osservata un'evaporazione fino al 20% del campione, dovuta all'elevata volatilità del terreno di raccolta PreservCyt. Ciò non dovrebbe influire negativamente sui risultati del campione ma deve essere tenuto in considerazione nella preparazione dei campioni per l'elaborazione ritardata. Non è stata osservata alcuna evaporazione significativa con i campioni SurePath pretrattati.
- Evitare la contaminazione microbica e da desossiribonucleasi (DNasi) di tutti i reagenti e i materiali di consumo. In caso di trasferimento del campione in provette secondarie, si raccomanda l'uso di pipette di trasferimento monouso sterili prive di DNasi. Utilizzare una nuova pipetta per ciascun campione.
- Per evitare la contaminazione, non manipolare o spezzare nessuna NeuMoDx Cartridge dopo l'amplificazione. In nessun caso recuperare le NeuMoDx Cartridge dal contenitore dei materiali di scarto a rischio biologico (NeuMoDx 288 Molecular System) o dal recipiente materiali di scarto a rischio biologico (NeuMoDx 96 Molecular System). La cartuccia NeuMoDx Cartridge è stata progettata in modo da prevenire la contaminazione.
- Nei casi in cui dal laboratorio siano condotti anche test per PCR in provetta aperta, è necessario assicurarsi che la NeuMoDx HPV Test Strip, i materiali di consumo e i reagenti aggiuntivi necessari per i test, i dispositivi di protezione individuale come guanti e camici da laboratorio e il NeuMoDx System non siano contaminati.
- Durante la manipolazione dei reagenti e dei materiali di consumo NeuMoDx, è necessario indossare guanti in nitrile, puliti e privi di polvere. Prestare attenzione a non toccare la superficie superiore della NeuMoDx Cartridge, la superficie del sigillante della NeuMoDx HPV Test Strip e della NeuMoDx Extraction Plate o la superficie superiore dei contenitori del NeuMoDx Lysis Buffer 2; la manipolazione dei materiali di consumo e dei reagenti deve essere effettuata toccando solo le superfici laterali.
- Per ogni reagente vengono fornite le schede di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS) (se applicabile) su www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Lavarsi bene le mani dopo avere eseguito il test.
- Non pipettare con la bocca. Non fumare, mangiare o bere nelle aree in cui vengono manipolati i campioni o i reagenti.
- Maneggiare sempre i campioni come se fossero infettivi e in conformità con procedure di laboratorio sicure, come quelle descritte in *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁷ e nel Documento M29-A4¹⁸ del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).
- Smaltire i reagenti inutilizzati e i materiali di scarto in conformità alle normative nazionali, federali, provinciali, regionali e locali.
- Non riutilizzare.

STOCCAGGIO, MANIPOLAZIONE E STABILITÀ DEL PRODOTTO

- Le NeuMoDx HPV Test Strip sono stabili nell'imballaggio primario fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta esterna del prodotto, se conservate a una temperatura compresa tra 15 e 23 °C.
- Non ricaricare alcun prodotto di test che sia stato caricato in precedenza su *un altro* NeuMoDx System.
- Una volta caricata, la NeuMoDx HPV Test Strip può restare a bordo del NeuMoDx System per 14 giorni. Il periodo di validità residuo delle strisce reattive caricate è tracciato dal software e segnalato all'utente in tempo reale. La rimozione di una striscia reattiva utilizzata oltre il periodo consentito sarà richiesta dal sistema.

RACCOLTA, MANIPOLAZIONE, CONSERVAZIONE E TRASPORTO DEI CAMPIONI

1. Il NeuMoDx HPV Assay è destinato all'uso con i campioni ottenuti da campioni di cervice. Il terreno di raccolta approvato per i campioni di cervice è PreservCyt e SurePath. Per la preparazione e la conservazione, attenersi alle istruzioni del produttore dei dispositivi di raccolta dei campioni.
2. I campioni SurePath devono essere pretrattati prima dell'uso seguendo le istruzioni specifiche riportate di seguito.
3. **Per garantire prestazioni del sistema corrette, i campioni refrigerati devono essere equilibrati a temperatura ambiente per almeno 30 minuti prima dell'elaborazione.**
4. I campioni di cervice preparati possono restare sul NeuMoDx System per un massimo di 24 ore prima dell'elaborazione. Se è necessario un tempo di conservazione maggiore, si raccomanda di conservare i campioni attenendosi alle seguenti indicazioni:

Campioni cervicali in PreservCyt:

- a. Fino a 6 settimane dopo il campionamento se conservati a una temperatura di 15–25 °C
- b. Fino a 3 mesi dopo il campionamento se conservati a una temperatura di 2–8 °C
- c. Fino a 8 anni in caso di conservazione a -80 °C. Se i campioni sono congelati, farli scongelare completamente a temperatura ambiente (15–30 °C) e ruotare per generare un campione distribuito in maniera uniforme.

Campioni cervicali in SurePath:

- a. Fino a 30 giorni dopo il campionamento se conservati a una temperatura di 2-30 °C

- b. Fino a 180 giorni dopo il campionamento se conservati a una temperatura di 2–8 °C
 - c. Fino a 180 giorni in caso di conservazione a -20 °C. Se i campioni sono congelati, farli scongelare completamente a temperatura ambiente (15–30 °C) e ruotare per generare un campione distribuito in maniera uniforme.
5. Se i campioni vengono spediti, devono essere imballati ed etichettati in conformità alle normative locali e/o internazionali applicabili.
 6. Etichettare i campioni in modo chiaro e indicare che i campioni sono per l'analisi dell'HPV.

ISTRUZIONI PER L'USO

Preparazione del test - PRESERVCYT

1. Applicare l'etichetta con codice a barre del campione su una provetta per campioni compatibile con NeuMoDx System.
2. Collocare la provetta con codice a barre in un portaprovette per campioni e accertarsi che il tappo venga rimosso prima del caricamento sul NeuMoDx System.
3. Suddividere il campione in aliquote in base ai volumi definiti di seguito per i campioni **PreservCyt**:
 - Portaprovette per campioni (32 provette): 11 – 14 mm di diametro e 60 – 120 mm di altezza; volume di riempimento minimo = 400 µL
 - Portaprovette per campioni (24 provette): 14,5 – 18 mm di diametro e 60 – 120 mm di altezza; volume di riempimento minimo = 850 µL
 - Portaprovette per campioni a volume ridotto (32 provette): Provetta per microcentrifuga a fondo conico da 1,5 mL; volume di riempimento minimo = 250 µL

Preparazione del test - SUREPATH

1. Pretrattare il campione SurePath con un volume 1:1 di NeuMoDx Viral Lysis Buffer e mescolare accuratamente. Utilizzare un volume appropriato per soddisfare il volume minimo del campione come definito di seguito.
2. Incubare a 90 °C per 20 minuti, quindi riportare a temperatura ambiente prima di procedere.
3. Applicare l'etichetta con codice a barre del campione su una provetta per campioni compatibile con NeuMoDx System.
4. Collocare la provetta con codice a barre in un portaprovette per campioni e accertarsi che il tappo venga rimosso prima del caricamento sul NeuMoDx System.
5. Suddividere il campione in aliquote in base ai volumi definiti di seguito per i campioni **SurePath**:
 - Portaprovette per campioni (32 provette): 11 – 14 mm di diametro e 60 – 120 mm di altezza; volume di riempimento minimo = 450 µL
 - Portaprovette per campioni (24 provette): 14,5 – 18 mm di diametro e 60 – 120 mm di altezza; volume di riempimento minimo = 800 µL
 - Portaprovette per campioni a volume ridotto (32 provette): Provetta per microcentrifuga a fondo conico da 1,5 mL; volume di riempimento minimo = 300 µL

Funzionamento del NeuMoDx System

Per istruzioni dettagliate, fare riferimento ai Manuali dell'operatore del NeuMoDx 288 e del 96 Molecular System (P/N 40600108 e 40600317)

1. Caricare l'ordine di test sul NeuMoDx System in base al tipo di campioni desiderato.
 - I campioni PreservCyt vengono analizzati definendo il campione come "Cytology" (Citologia).
 - I campioni PreservCyt pretrattati vengono analizzati definendo il campione come "UserSpecified1" (Specifico dell'utente 1).

Se non è definito nell'ordine di test, verrà utilizzato come impostazione predefinita il tipo PreservCyt.

2. Inserire una o più NeuMoDx HPV Test Strip in uno o più supporti per NeuMoDx System Test Strip e usare il touchscreen per caricare tali supporti nel NeuMoDx System.
3. Se richiesto dal software del NeuMoDx System, aggiungere i materiali di consumo richiesti nei relativi supporti del NeuMoDx System e utilizzare il touchscreen per caricare i supporti nel NeuMoDx System.
4. Se richiesto dal software del NeuMoDx System, sostituire NeuMoDx Wash Reagent e NeuMoDx Release Reagent, svuotare il contenitore dei rifiuti di adescamento, dei materiali di scarto a rischio biologico (solo NeuMoDx 288 Molecular System), il recipiente dei puntali di scarto (solo NeuMoDx 96 Molecular System) o il recipiente dei materiali di scarto a rischio biologico (solo NeuMoDx 96 Molecular System), secondo necessità.
5. Caricare le provette per campioni in un portaprovette per campioni e assicurarsi che da tutte le provette siano stati rimossi i tappi.
6. Posizionare i portaprovette sul ripiano del caricatore automatico e utilizzare il touchscreen per caricare il o i portaprovette nel NeuMoDx System. In tal modo verrà avviata l'elaborazione dei campioni caricati per i test identificati, a condizione che nel sistema sia presente un ordine di test valido.

LIMITAZIONI

1. La striscia reattiva NeuMoDx HPV Test Strip può essere utilizzata solo sui sistemi NeuMoDx.
2. Le prestazioni della NeuMoDx HPV Test Strip sono state stabilite per i campioni ottenuti dai campioni cervicali (scrape) in PreservCyt, SurePath o un terreno di raccolta per citologia equivalente. L'uso della NeuMoDx HPV Test Strip con altre fonti cliniche non è stato valutato e le caratteristiche delle prestazioni non sono note per altri tipi di campioni.

3. Solo i campioni SurePath pretrattati con il Viral Lysis Buffer possono essere utilizzati sui NeuMoDx Molecular System. I campioni non diluiti possono produrre risultati non validi o non ottimali.
4. Poiché il rilevamento di HPV dipende dalla quantità di tessuto presente nel campione, l'affidabilità dei risultati dipende dalla correttezza delle operazioni di prelievo, manipolazione e conservazione dei campioni.
5. Eventuali risultati errati potrebbero essere dovuti al fatto di non aver eseguito correttamente il prelievo, la manipolazione o la conservazione, a errori tecnici o a confusione tra provette per campioni. Inoltre potrebbero verificarsi falsi negativi se il numero di particelle virali nel campione è al di sotto del limite di rilevazione del NeuMoDx HPV Assay.
6. Il NeuMoDx System è destinato a essere utilizzato esclusivamente da personale addestrato all'uso del sistema.
7. Se non si amplificano sia i target HPV che il target β -globina, si otterrà un risultato non valido (Indeterminate (Indeterminato), No Result (Nessun risultato) o Unresolved (Irrisolto)) e si dovrà ripetere il test.
8. Un risultato positivo non indica necessariamente la presenza di HPV vitale. Piuttosto, un risultato positivo è indice di possibile presenza di DNA di HPV.
9. Eventuali cancellazioni o mutazioni nelle regioni target del NeuMoDx HPV Assay possono influire sul rilevamento e portare a un risultato errato.
10. I risultati del test NeuMoDx HPV Assay dovranno essere impiegati in aggiunta alle osservazioni cliniche e ad altre informazioni disponibili al medico.
11. Si raccomandano buone pratiche di laboratorio, compreso il cambio di guanti tra una manipolazione dei campioni dei pazienti e quella successiva, per evitare la contaminazione.

ELABORAZIONE DEI RISULTATI

I risultati disponibili possono essere visualizzati o stampati dalla scheda "Results" (Risultati) nella finestra Results (Risultati) sul touchscreen del NeuMoDx System. I risultati del NeuMoDx HPV Assay vengono generati automaticamente dal software del NeuMoDx System utilizzando l'algoritmo decisionale e i parametri di elaborazione dei risultati specificati nel file di definizione del test NeuMoDx HPV (HPV ADF). Un risultato del NeuMoDx HPV Assay può essere riportato come Negative (Negativo), Positive (Positivo), Indeterminate (Indeterminato) (IND), No Result (Nessun risultato) (NR) o Unresolved (Irrisolto) (UNR) in base allo stato di amplificazione dei target e al controllo di processo del campione. I risultati sono riportati nell'algoritmo decisionale dell'ADF, riepilogato nella *Tabella 1*.

Le soglie Ct per ciascun target sono state stabilite e sono presentate nella *Tabella 2* seguente per allinearsi alla rilevanza clinica dell'esame. Possono verificarsi casi in cui si osserva una curva di amplificazione target ma viene riportato un risultato negativo. Questa segnalazione è coerente con l'elaborazione dei risultati e i criteri di cutoff convalidati da NeuMoDx.

I risultati riportati dal test HPV NeuMoDx devono essere valutati dal medico nel contesto di altri risultati.

Tabella 1. Riepilogo dell'algoritmo decisionale del TV/HPV Assay

RISULTATO	HPV16	HPV18	HPV diverso	CONTROLLO PROCESSO (β G)
POSITIVE (POSITIVO)	AMPLIFIED (AMPLIFICATO)	N/A [^]	N/A [^]	N/A [^]
POSITIVE (POSITIVO)	N/A [^]	AMPLIFIED (AMPLIFICATO)	N/A [^]	N/A [^]
POSITIVE (POSITIVO)	N/A [^]	N/A [^]	AMPLIFIED (AMPLIFICATO)	N/A [^]
NEGATIVE (NEGATIVO)	NOT AMPLIFIED (NON AMPLIFICATO)	NOT AMPLIFIED (NON AMPLIFICATO)	NOT AMPLIFIED (NON AMPLIFICATO)	AMPLIFIED (AMPLIFICATO)
IND (INDETERMINATO)	NOT AMPLIFIED, System Error Detected, Sample Processing Completed (Non amplificato, Rilevato errore di sistema, Elaborazione del campione completata)			
IND/NR* (INDETERMINATO/NESSUN RISULTATO)	NOT AMPLIFIED, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Non amplificato, Rilevato errore di sistema, Elaborazione del campione interrotta)			
UNR (IRRISOLTO)	NOT AMPLIFIED, No System Errors Noted (NON AMPLIFICATO, Nessun errore di sistema notato)			

* Il flag No Result (Nessun risultato) è riportato solo su NeuMoDx System versione software 1.8 e successive.

[^] N/A = Non applicabile

Tabella 2. Valori di Cutoff Ct per riscontri positivi

RISULTATO	HPV16	HPV18	HPV diverso	CONTROLLO PROCESSO (βG)
POSITIVE (POSITIVO)	33	33	30	N/A*

* N/A = Non applicabile

Controllo qualità

Le normative locali in genere specificano che il laboratorio è responsabile delle procedure di controllo che monitorano l'accuratezza e la precisione dell'intero processo analitico e devono stabilire il numero, il tipo e la frequenza di test dei materiali di controllo utilizzando specifiche di prestazione verificate per un sistema di test approvato e non modificato.

Controlli definiti dall'utente (esterni)

1. I controlli appropriati definiti dall'utente devono essere scelti e approvati dal laboratorio ai sensi delle linee guida locali. I controlli definiti dall'utente devono rispettare le stesse specifiche di volume minimo dei campioni clinici specificati in precedenza sulla base delle dimensioni del portaprovette per campioni.
2. Quando si elaborano i controlli definiti dall'utente, collocare i controlli etichettati in un portaprovette per campioni e utilizzare il touchscreen per caricare il portaprovette nel NeuMoDx System dal ripiano del caricatore automatico. Una volta definito, il NeuMoDx System riconoscerà i codici a barre e avvierà l'elaborazione dei controlli.
3. È consigliabile che gli utenti elaborino un set di controlli definiti dall'utente negativi e positivi ogni 24 ore.
4. Un risultato positivo riportato per un campione di controllo definito dall'utente negativo può indicare un problema di contaminazione del campione. Per suggerimenti in merito alla risoluzione dei problemi, fare riferimento al *Manuale dell'operatore del NeuMoDx 288 o 96 Molecular System*.
5. Un risultato negativo riportato per un campione di controllo definito dall'utente positivo può indicare la presenza di un problema correlato a un reagente oppure al NeuMoDx System. Per suggerimenti in merito alla risoluzione dei problemi, fare riferimento al *Manuale dell'operatore del NeuMoDx 288 o 96 Molecular System*.

Controllo (interno) di elaborazione dei campioni

La β-Globina (βG) funziona da controllo interno endogeno in quanto è presente negli scrape cervicali prelevati correttamente. Il target βG viene sottoposto all'intero processo di estrazione dell'acido nucleico e amplificazione della PCR real-time con ciascun campione e funziona anche da controllo di qualità del campione. In ogni NeuMoDx HPV Test Strip sono inclusi anche primer e sonda specifici per βG oltre a primer e sonde per target HPV multipli, consentendo il rilevamento della presenza della βG insieme al DNA dell'HPV target (se presente) tramite PCR multiplex. Il rilevamento dell'amplificazione di βG consente al software del NeuMoDx System di monitorare l'efficacia dei processi di prelievo dei campioni, estrazione del DNA e amplificazione della PCR.

Controlli dei NeuMoDx System

I NeuMoDx System eseguono diversi controlli interni degli strumenti, come indicato di seguito:

1. Prima della PCR, il NeuMoDx System esegue automaticamente un "FILL CHECK" (CONTROLLO RIEMPIMENTO) per verificare che la camera PCR sia riempita con la soluzione e che contenga un'adeguata quantità di sonda fluorescente.
2. Il software NeuMoDx System monitora continuamente i sensori di bordo e gli attuatori per garantire un funzionamento sicuro ed efficiente del sistema.
3. Il monitoraggio attivo delle operazioni di aspirazione e dispensa implementa varie modalità di recupero degli errori fluidici per garantire che il sistema completi l'elaborazione di tutti i campioni in maniera sicura ed efficiente o fornisca un codice di errore appropriato.
4. Il NeuMoDx System è dotato di una funzione automatica Rerun (Riesegui)/Repeat (Ripeti), che può essere selezionata dall'utente finale per garantire la rielaborazione automatica di un risultato INVALID (NON VALIDO) e ridurre così al minimo i ritardi nell'ottenimento dei risultati.

Risultati non validi

Se un NeuMoDx HPV Assay eseguito sul NeuMoDx System non è in grado di produrre un risultato valido, sarà riportato come Indeterminate (IND) (Indeterminato) o Unresolved (UNR) (Irrisolto) o No Result (NR) (Nessun risultato) in base al tipo di errore che si è verificato.

Il risultato sarà IND se viene rilevato un errore del NeuMoDx System durante l'elaborazione del campione. Se viene riportato un risultato IND, si consiglia di ripetere il test.

Il risultato sarà UNR quando non viene rilevata alcuna amplificazione valida del DNA dell'HPV o della βG, cosa che indica un possibile errore dovuto al reagente o la presenza di inibitori. Se viene riportato un risultato UNR, si consiglia in primo luogo di ripetere il test. Se ancora non si ottiene un risultato valido, è possibile usare un campione diluito per mitigare gli effetti di un'eventuale inibizione del campione.

Se l'elaborazione del campione viene interrotta a causa di un errore di sistema, verrà riportato un risultato NR. Se viene riportato un risultato NR, si consiglia di ripetere il test. Questo flag viene riportato solo su NeuMoDx Software versioni 1.8 e successive. Nelle versioni precedenti del software, questo errore era riportato come IND.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Sensibilità analitica

Il limite di rilevamento (Limit of Detection, LoD) è stato determinato utilizzando una serie di diluizioni seriali triplici di gBlock (blocchi di DNA genomico a doppio filamento) contenente la regione di amplicone di ciascuno dei tipi di HPV utilizzati come target (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67, 68) e la β -globina. Ciascuna serie di diluizioni di sei membri è stata preparata in un fondo di 2000 ng/mL di DNA umano (eccetto per la β -globina) e la concentrazione è stata testata 45 volte. I risultati dello studio in cui l'LoD è stato determinato utilizzando l'analisi con hit-rate del 95% sono presentati nella *Tabella 3* di seguito.

Tabella 3. Limite di rilevamento (Limit of Detection, LoD) del NeuMoDx HPV Assay dei tipi hrHPV 15 e del gene della β -globina

Target	Limite di rilevamento (copie/mL)
HPV 16	8.230
HPV 18	2.743
HPV 31	24.691
HPV 33, 35, 39, 45, 51, 56, 66, 67	74.074
HPV 52, 58, 59	222.222
HPV 68	666.667
β -globina	74.074

Specificità analitica

La specificità analitica del NeuMoDx HPV Assay è stata determinata rispetto al DNA dei genomi HPV non target (*Tabella 4*) a 1×10^6 copie/mL e rispetto ai microorganismi vaginali potenzialmente patogeni mostrati nella *Tabella 5* a 1×10^6 CFU/mL o 1×10^5 PFU/mL. L'esame non ha mostrato alcuna reattività crociata con i tipi HPV non target 6, 11, 26, 30, 34, 53, 69, 73, 82, 85 o con i microorganismi. Sono stati osservati risultati positivi "HPV Other" (HPV diverso) con HPV 70, dovuti probabilmente a un'elevata omologia delle sequenze tra i tipi 39, 68 e 70, e un successivo studio della titolazione ha indicato che questo tipo poteva essere rilevato a $\geq 4,12 \times 10^6$ copie/mL. L'HPV 70 probabilmente viene considerato cancerogeno sulla base di studi epidemiologici, filogenetici e funzionali.

Tabella 4. Tipi HPV non target valutati per reattività crociata

Genotipi di HPV non target	
HPV 6	HPV 69
HPV 11	HPV 70
HPV 26	HPV 73
HPV 30	HPV 82
HPV 34	HPV 85
HPV 53	

Tabella 5. Microorganismi valutati per reattività crociata

Microorganismo		
Adenovirus*	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	Virus di 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 dell'herpes simplex 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	Virus dell'herpes 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>	

* testato a 1×10^5 (TCID₅₀)/mL

**eseguito mediante analisi in silico

Riproducibilità analitica

La riproducibilità analitica del NeuMoDx HPV Assay è stata valutata utilizzando lo stesso set di dati utilizzato per lo studio del limite di rilevamento. I campioni sono stati testati a 3X LoD tra 3 diversi NeuMoDx Molecular System, 1 sistema N288 e 2 sistemi N96 utilizzando 3 diversi lotti di NeuMoDx HPV Test Strip. I dati hanno mostrato un'eccellente riproducibilità complessiva, con un CV massimo di 3,0% per ognuno dei genotipi testati, come mostrato nella *Tabella 6*. Inoltre, questo set di dati è stato utilizzato per dimostrare la riproducibilità tra lotti di reagenti e sistemi come mostrato nella *Tabella 7*.

Tabella 6. Genotipi di hrHPV testati

Target	Concentrazione target	copie/mL	Hit-rate	CV complessivo
β-globina	3X LoD	222222	100% (45/45)	1,8%
HPV 16		24691	100% (44/44)	1,3%
HPV 18		8230	100% (45/45)	1,3%
HPV 31		74074	100% (45/45)	1,3%
HPV 33		222222	100% (45/45)	1,6%
HPV 35		222222	100% (45/45)	0,8%
HPV 39		222222	100% (45/45)	1,4%
HPV 45		222222	100% (45/45)	1,5%
HPV 51		222222	100% (45/45)	1,8%
HPV 52		666667	97,8% (44/45)	3,0%
HPV 56		222222	100% (45/45)	1,3%
HPV 58		666667	100% (44/44)	2,4%
HPV 59		666667	100% (45/45)	2,5%
HPV 66		222222	100% (45/45)	1,8%
HPV 67		222222	100% (45/45)	1,4%
HPV 68		2000000	100% (45/45)	2,9%

Tabella 7. Riproducibilità tra lotti e tra sistemi

Target	CV di variabilità del lotto			CV di variazione del sistema		
	Lotto 1	Lotto 2	Lotto 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%

Sostanze interferenti

I campioni artificiali di PreservCyt sono stati arricchiti con baculovirus ricombinante includendo regioni di amplicone di HPV 16, 18, 51 e β -globina a 1000 copie/mL e le sostanze elencate nella *Tabella 8*. Nessuno degli agenti ha avuto un effetto inibitore significativo sulle prestazioni dell'esame.

Tabella 8. Sostanze potenzialmente interferenti testate

	Sostanza	Concentrazione
Endogena	Sangue intero (umano)	1% (v/v)
	Leucociti	10 ⁶ cellule/mL
	Mucina	1% (v/v)
Esogena	Lavanda vaginale	1% (v/v)
	Crema antifungina	1% (m/v)
	Spermicida	1% (m/v)
	Lubrificante vaginale	1% (m/v)
	Spray femminile	1% (v/v)
	Spugna contraccettiva	1% (m/v)

Stabilità dei campioni on-board

Il controllo del baculovirus ricombinante contenente i target per HPV 16, 18, 51 e β -globina è stato arricchito a ~3x LOD cp/mL nel terreno di raccolta SurePath o PreservCyt ed elaborato con il NeuMoDx HPV Assay. Al termine dell'elaborazione, tutte le provette di campioni positivi e negativi sono state lasciate sul piano di lavoro del sistema per 4, 8 e 24 ore e quindi rielaborate. Il risultato atteso in tutti i punti tempo è stato POSITIVE (POSITIVO) per tutti i campioni citologici arricchiti con target e NEGATIVE (NEGATIVO) (per tutti i target) nei campioni citologici che non sono stati arricchiti con il target. È stata osservata una concordanza totale con il risultato atteso, compreso il punto tempo di 24 ore che indica che è stata dimostrata una stabilità on-board di 24 ore per i test con il NeuMoDx HPV Assay. I risultati sono riassunti nella *Tabella 9* di seguito. I campioni PreservCyt hanno subito un'evaporazione fino al 20% mentre erano conservati a bordo del sistema per 24 ore, ma ciò non ha influito sulla rilevazione dei target al livello testato.

Tabella 9. Riepilogo dei dati relativi alla stabilità on board del campione

Stabilità dei campioni on-board	Target	PreservCyt		SurePath	
		T ₀	24 ore	T ₀	24 ore
		% concordanza	% concordanza	% concordanza	% concordanza
Set positivo	HPV 16	100%	100%	100%	100%
	HPV 18	100%	100%	100%	100%
	HPV diverso	100%	100%	100%	100%
	β -globina	100%	100%	100%	100%
Set negativo	Negativo (solo β -globina)	100%	100%	100%	100%

Prestazioni cliniche - Terreno di raccolta PreservCyt

La sensibilità clinica e la specificità del NeuMoDx HPV Assay per la neoplasia intraepiteliale della cervice di grado 2 o superiore (CIN2+) nei campioni cervicali raccolti in PreservCyt è stata valutata mediante analisi di non inferiorità relativa all'esame di riferimento (vale a dire HPV ad alto rischio GP5+/6+-PCR-EIA) seguendo le linee guida internazionali per i requisiti di test HPV per lo screening del cancro della cervice.¹⁶ Utilizzando un formato di studio caso-controllo, sono stati testati 67 campioni di donne a partire dai 30 anni con CIN2+ confermata a livello istologico (vale a dire i casi; *Tabella 10*). Per la specificità clinica, sono stati testati 823 campioni di citologia liquidi prelevati consecutivamente dalla popolazione di donne con citologia normale e senza evidenza di CIN2+ entro 2 anni di follow-up (vale a dire, i controlli). Il tasso di successo complessivo con il NeuMoDx HPV Assay è stato del 99,4% (818/823), come mostrato nella *Tabella 11*. La sensibilità clinica del NeuMoDx HPV Assay per CIN2+ è stata di 92,5% (62/67; IC 95% 83,3–96,9) e la specificità clinica per CIN2+ è stata di 95,6% (782/818; IC 95% 92,2–97,6), entrambe non inferiori a quella dell'esame di riferimento GP5+/6+-PCR-EIA (rispettivamente $P=0,02$ e $P<0,0001$).

Tabella 10. Risultati della sensibilità clinica dei campioni di donna a partire da 30 anni con CIN2+ confermata

Test di riferimento	NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	TOTALE
POS	61	2	63
NEG	1	3	4
TOTALE	62	5	67
NeuMoDx HPV Assay per la sensibilità clinica: 92,5% (IC 95% 83,3–96,9)			

Tabella 11. Risultati della specificità clinica dei campioni di donne con citologia normale e nessuna CIN2+ confermata

Test di riferimento	NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	TOTALE
POS	28	19	47
NEG	8	763	771
TOTALE	36	782	818
NeuMoDx HPV Assay per la specificità clinica: 95,6% (IC 95% 92,2-97,6)			

Per le donne sotto i 30 anni, sono stati testati 173 campioni di citologia liquida di donne che frequentavano un laboratorio. Il tasso di successo del NeuMoDx HPV Assay è stato del 98,3% (170/173) (Tabella 12). La sensibilità CIN3+ del NeuMoDx HPV Assay è stata del 91,1% (41/45; IC 95% 78,6-96,6) e la specificità del CIN3+ del 51,2% (64/125; IC 95% 42,5-60,0). I valori di sensibilità relativa e di specificità confrontati con il QIAScreen HPV PCR Test sono stati, rispettivamente, 1,03 e 1,10.

Tabella 12. Prestazioni del NeuMoDx HPV Assay nelle donne di età inferiore ai 30 anni stratificate mediante istologia e QIAScreen HPV PCR Test

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

Per le donne con ASC-US o LSIL, la sensibilità clinica per CIN2+ è stata di 91,7% (11/12; IC 95% 58,7–98,8) e la specificità clinica per CIN2+ è stata di 75,0% (15/20; IC 95% 52,2–89,2) (Tabella 13).

Tabella 13. Prestazioni del NeuMoDx HPV Assay nelle donne con citologia ASC-US/LSIL stratificata mediante istologia e risultato del test di riferimento

Istologia	Esame di riferimento	NeuMoDx HPV Assay		
		NEG	POS	TOTALE
<=CIN1	NEG	13	-	13
	POS	2	5	7
	TOTALE	15	5	20
CIN2	NEG	-	-	-
	POS	-	6	6
	TOTALE	-	6	6
CIN3+	NEG	1	-	1
	POS	-	5	5
	TOTALE	1	5	6
COMPLESSIVO	NEG	14	-	14
	POS	2	16	18
	TOTALE	16	16	32

Prestazioni cliniche - Terreno di raccolta SurePath

La sensibilità e la specificità clinica del NeuMoDx HPV Assay per la rilevazione di CIN2+ sono state determinate utilizzando 948 campioni di raschiamento cervicale raccolti nel terreno di raccolta SurePath, utilizzando un disegno di studio caso-controllo. La sensibilità e la specificità relative per CIN2+ del NeuMoDx HPV Assay rispetto a un esame di riferimento validato clinicamente (cioè HPV-Risk Assay) sono state determinate in base al metodo statistico del "test di non inferiorità".

La sensibilità clinica è stata determinata utilizzando 106 campioni di donne con diagnosi di CIN2+ confermata istologicamente (cioè casi). L'età media delle donne era di 38 anni (range 30-58). È stato determinato che la sensibilità del NeuMoDx HPV Assay era pari a 92,5% (98/106; IC 95%: 85,6-96,2) e uguale a quella dell'esame di riferimento HPV-Risk (Tabella 14). La sensibilità relativa del NeuMoDx HPV Assay rispetto all'esame HPV-Risk è risultata pari a 1,00 con un valore di non inferiorità di P=0,0009.

La specificità clinica è stata determinata sulla base di 842 campioni LBC raccolti (SurePath) dalla popolazione di screening di donne con citologia normale e senza evidenza di CIN2+ entro 2 anni di follow-up. L'età media delle donne era di 43 anni (range 30-59) e il 98,6% (935/948) dei campioni è risultato valido. La specificità del NeuMoDx HPV Assay è stata del 93,5% (775/829; IC 95%: 91,6-95,0) e quella dell'esame di riferimento HPV-Risk del 91,9% (762/829; IC 95%: 89,9-93,6) (Tabella 15). La specificità relativa del NeuMoDx HPV Assay rispetto all'esame HPV-Risk è risultata pari a 1,02 con un valore di non inferiorità di P<0,0001.

Tabella 14. Risultati di sensibilità clinica di campioni provenienti da donne con CIN2+ confermata nel terreno di raccolta SurePath

Test di riferimento	NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	TOTALE
POS	97	1	98
NEG	1	7	8
TOTALE	98	8	106

NeuMoDx HPV Assay per la sensibilità clinica: 92,5% (IC 95% 85,6-96,2)

Tabella 15. Risultati della specificità clinica dei campioni di donne con citologia normale e nessuna CIN2+ confermata nel terreno di raccolta SurePath

Test di riferimento	NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	TOTALE
POS	48	6	54
NEG	19	756	775
TOTALE	67	775	842

NeuMoDx HPV Assay per la specificità clinica: 93,5% (IC 95% 91,6-95,0)

Riproducibilità clinica

La riproducibilità all'interno del laboratorio e la concordanza tra laboratori del test sui campioni clinici raccolti in PreservCyt sono state valutate in base alle linee guida internazionali per i requisiti di test dell'HPV per lo screening del cancro della cervice.¹⁶ La riproducibilità all'interno del laboratorio sui campioni cervicali per la durata dello studio è stata del 96,0% (484/504; IC 95% 94,3-97,4) con un valore kappa (κ) di 0,90 (Tabella 16). I risultati di questi momenti di test sono stati quindi valutati per la concordanza con quelli di un altro sito di test, fornendo concordanze tra laboratori di 96,4% (486/504; IC 95% 94,8-97,7) con $\kappa=0,91$ e 94,4% (476/504; IC 95% 92,5-96,1) con $\kappa=0,86$, rispettivamente, per il primo e il secondo momento di test (Tabella 17).

Tabella 16. Riproducibilità all'interno del laboratorio del NeuMoDx HPV Assay nel tempo

NeuMoDx HPV Assay – Risultato del test 1	NeuMoDx HPV Assay – Risultato del test 2		
	NEG	POS	TOTALE
NEG	347	13	360
POS	7	137	144
TOTALE	354	150	504
Riproducibilità = 96,0% (IC 95% 94,3–97,4); $\kappa=0,90$			

Tabella 17. Concordanza tra laboratori del NeuMoDx HPV Assay

Test esterno NeuMoDx HPV Assay	NeuMoDx HPV Assay – Risultato del test interno 1			NeuMoDx HPV Assay – Risultato del test interno 2		
	NEG	POS	TOTALE	NEG	POS	TOTALE
NEG	355	13	368	347	21	368
POS	5	131	136	7	129	136
TOTALE	360	144	504	354	150	504
Concordanza del 96,4% (IC 95% 94,8–97,7); $\kappa=0,91$			Concordanza del 94,4% (IC 95% 92,5–96,1); $\kappa=0,86$			

BIBLIOGRAFIA

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.

MARCHI COMMERCIALI

NeuMoDx™ e NeuDry™ sono marchi commerciali di NeuMoDx Molecular, Inc.

Hamilton® è un marchio commerciale registrato di Hamilton Company.

PreservCyt® è un marchio commerciale registrato di Hologic, Inc.

SurePath™ è un marchio commerciale di Becton Dickinson (BD).

Tutti gli altri nomi di prodotto, i marchi commerciali e i marchi commerciali registrati che possono apparire in questo documento sono di proprietà dei rispettivi proprietari.

LEGENDA DEI SIMBOLI

 R only	Solo su prescrizione medica		Limite di temperatura
	Produttore		Non riutilizzare
	Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>		Contenuto sufficiente per <n> test
	Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea		Consultare le istruzioni per l'uso
	Numero di catalogo		Attenzione
	Codice lotto		Rischio biologico
	Data di scadenza		Marchio CE



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

Sponsor (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



Assistenza tecnica/Rapporti di vigilanza: support@qiagen.com

Brevetto: www.neumodx.com/patents