

REF 617007 NeuMoDx™ HPV Test Strip

R only

VOORZICHTIG: Voor VS: uitsluitend bestemd voor export

IVD Voor *in-vitro*diagnostisch gebruik met het NeuMoDx 288 System en NeuMoDx 96 Molecular Systems

 De digitale versie is beschikbaar via www.qiaagen.com/neumodx-ifu

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van NeuMoDx 288 Molecular System voor gedetailleerde instructies; O/N 40600108

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van NeuMoDx 96 Molecular System voor gedetailleerde instructies; O/N 40600317

BEOOGD GEBRUIK

De NeuMoDx HPV Assay, uitgevoerd op het NeuMoDx 96 Molecular System en NeuMoDx 288 Molecular System (NeuMoDx System(s)), is een snelle, automatische, *in-vitro*diagnostische, op realtime PCR gebaseerde amplificatietest van nucleïnezuren voor de kwalitatieve detectie van DNA van hoog-risico typen van humaan papillomavirus (HPV) in cervicale specimina. De test identificeert specifiek HPV16 en HPV18, en detecteert gelijktijdig de andere typen met hoog risico (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 en 68) op klinisch relevante infectie-niveaus. Cervicale specimina die met de NeuMoDx HPV Assay mogen worden getest, omvatten cervicale specimina die met een cervixborstel of endocervicale borstel zijn afgenomen door een arts en bewaard in de op vloeistof gebaseerde cytologie PreservCyt® (HOLOGIC) of SurePath™ (BD). De assay is bestemd voor gebruik als primaire test bij de screening van vrouwen van 21 jaar en ouder op het risico van (het voorstadium van) baarmoederhalskanker, om te bepalen of verwijzing voor colposcopie of andere vervolgpcedures noodzakelijk is, en als vervolgtest voor vrouwen met een uitslag van het cervixuitstrijkje die duidt op ASC-US (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance; atypische cellen waarvan de significantie niet is vastgesteld) of LSIL (Low-grade Squamous Intra-epithelial Lesion; laaggradige squameuze intra-epitheliale lesie) om te bepalen of colposcopie of andere vervolgpcedures noodzakelijk zijn. Deze informatie, samen met de beoordeling van de arts van de cytologie, voorgeschiedenis, andere risicofactoren en professionele richtlijnen kan worden gebruikt om de patiënt verder te begeleiden.

Dit product is bedoeld voor toepassing door beroepsmatige gebruikers, bijvoorbeeld analisten en laboranten die zijn getraind in procedures op basis van *in-vitro*diagnostiek en moleculair biologische technieken.

SAMENVATTING EN UITLEG

Baarmoederhalskanker en voorafgaande laesies (intra-epitheliale neoplasie [Cervical Intraepithelial Neoplasia; CIN]) worden veroorzaakt door een persistente infectie met een hoog-risico type van humaan papillomavirus (Human Papillomavirus; HPV).¹⁻³ Humaan papillomavirussen (Human Papillomavirus; HPV) behoren tot de familie Papillomaviridae en zijn kleine dubbelstrengs DNA-virussen. Het cirkelvormig genoom is ongeveer 7,9 kilo-basen groot. Meer dan 100 typen HPV zijn geïdentificeerd, waarvan bepaalde typen, de 'hoog-risico HPV' (hrHPV) genoemd, zoals HPV 16 en 18, in verband worden gebracht met de inductie van mucosale laesies, wat kan leiden tot maligniteit. Het virale genoom bevat vroege (Early; E) en late (Late; L) genen, die eiwitten coderen die respectievelijk nodig zijn voor de vroege en late stadia van de HPV-levenscyclus. De E6- en E7-genproducten van hrHPV-typen hebben kankerverwekkende eigenschappen en zijn noodzakelijk voor maligne transformatie van de gastheercel.⁴ Maligne progressie wordt vaak in verband gebracht met virale integratie in het genoom van de gastheercel.⁵ De integratie resulteert in de onderbreking van het virale genoom in een gebied dat zich kan uitstrekken van het E1 tot het L1 open leesraam.⁶ Dit kan gevolgen hebben voor de PCR-gemedieerde amplificatie van viraal DNA in deze gebieden. Omdat niet alleen de initiatie, maar ook het behoud van het getransformeerde fenotype afhangt van continue blootstelling aan de virale oncoproteïnen, blijft het virale E6/E7-gebied onveranderlijk in geïntegreerde virale genomen bij baarmoederhalskanker.^{6,7,8}

Baarmoederhalskanker is een zeldzame complicatie van een HPV-infectie; het levenslang risico op een hrHPV-infectie wordt rond 80% geschat en de meeste infecties worden geëlimineerd door het immuunsysteem van de gastheer zonder dat ze aanleiding geven tot laesies.⁹ Na eliminatie van de HPV-infectie is er doorgaans een regressie van de CIN-laesies.¹⁰

Het testen op HPV-DNA biedt een betere bescherming tegen baarmoederhalskanker en de voorafgaande CIN-laesies in vergelijking met cytomorfolologische analyse (pap-uitstrijkje) in cervicale monsters bij de primaire screening van vrouwen van minstens 30 jaar oud en de triage van vrouwen van minstens 21 jaar oud met ASC-US of LSIL cervicale cytologie (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance; ASC-US).¹¹⁻¹⁵ De primaire, op HPV gebaseerde cervicale screening werd geïmplementeerd in diverse landen wereldwijd en internationale richtlijnen voor HPV-DNA-testvereisten voor primaire screening van baarmoederhalskanker zijn gepubliceerd.¹⁶ De NeuMoDx HPV Assay richt zich op een geconserveerd gebied binnen het E7-gen van het HPV-genoom, waarbij de mogelijk fout-negatieve resultaten bij virale integratie in het genoom van de gastheer uit de weg worden gegaan.

UITGANGSPUNT VAN DE PROCEDURE

De NeuMoDx HPV Assay combineert automatische extractie en amplificatie/detectie van DNA door realtime PCR. Cervicale specimina worden afgenomen in vloeibare cytologische oplossing en vervolgens overgebracht naar een compatibel secundair specimenbuisje, voorzien van een barcode en op het NeuMoDx System geplaatst. Het NeuMoDx System zuigt automatisch een aliquot van het specimen op en mengt dit met NeuMoDx Lysis Buffer 2 en de in de NeuMoDx Extraction Plate opgenomen reagentia om de verwerking in gang te zetten. Het NeuMoDx System automatiseert en integreert DNA-extractie en -concentratie, bereiding van reagentia en nucleïnezuuramplificatie/-detectie van de doelwitsequenties met behulp van realtime PCR. β -globine (β G) DNA, dat aanwezig is in elk juist afgenomen specimen, dient als endogene monsterverwerkingscontrole en helpt te monitoren op de aanwezigheid van remmende stoffen en op fouten van het systeem, proces of de reagentia. Zodra het specimen en de vereiste verbruiksartikelen in het NeuMoDx System zijn geplaatst, zijn er geen handelingen meer nodig door een laborant.

Het NeuMoDx System voert automatisch lysis, DNA-extractie en verwijdering van remmers uit. De vrijgekomen nucleïnezuren worden opgevangen door paramagnetische deeltjes. De deeltjes, met gebonden nucleïnezuur, worden geladen in de NeuMoDx Cartridge waar de ongebonden elementen worden weggespoeld met NeuMoDx Wash Reagent. Het gebonden DNA wordt vervolgens geëluëerd met behulp van NeuMoDx Release Reagent. Het NeuMoDx System doordrenkt daarna de eigen NeuDry™-amplificatiereagentia met het geëluëerde DNA. Deze reagentia bevatten alle componenten die nodig zijn om de 15 HPV-doelwitten (indien aanwezig) en het β -globine-doelwit gedurende 40 cycli te amplificeren. Zo kunnen zowel de doelwit- als controle-DNA-sequenties tegelijkertijd worden geamplificeerd en gedetecteerd. Na reconstitutie van de gedroogde PCR-reagentia brengt het NeuMoDx System het bereide PCR-mengsel over naar één PCR-kamer (per specimen) van de NeuMoDx Cartridge. Amplificatie en detectie van de controle- en doelwitsequenties (indien aanwezig) vinden plaats in de PCR-kamer. De NeuMoDx Cartridge is ontworpen om het amplificaat na PCR te bevatten, waardoor het risico op verontreiniging na amplificatie vrijwel volledig wordt weggenomen.

De geamplificeerde doelen worden realtime gedetecteerd met behulp van hydrolyseprobeverbindingen (meestal aangeduid met TaqMan®-verbindingen) die gebruikmaken van fluorogene, amplificaat-specifieke oligonucleotideprobleemoleculen van hun respectievelijke doelen. TaqMan-probes bestaan uit een fluorofoor die covalent is bevestigd aan het 5'-uiteinde van de oligonucleotideprobe en een quencher die is bevestigd aan het 3'-uiteinde. De fluorofoor en de quencher bevinden zich vlak bij elkaar op de intacte probe, waardoor het quenchermolecuul het fluorescent dat wordt uitgestraald door de fluorofoor kan onderdrukken door middel van Förster-resonantie-energieoverdracht (Förster Resonance Energy Transfer; FRET).

TaqMan-probes zijn zo ontworpen dat ze hybridiseren binnen een DNA-gebied dat is geamplificeerd door een specifieke set primers. Terwijl de Taq-DNA-polymerase de primer verlengt en de nieuwe streng synthetiseert, degradeert de activiteit van de 5'- tot 3'-exonuclease van de Taq-DNA-polymerase de probe die aan de template is gehybridiseerd. Door de degradatie geeft de probe de fluorofoor vrij en wordt de nabijheid met de quencher verbroken, waardoor het dovende effect door middel van FRET wordt doorbroken en detectie van de fluorofoor mogelijk wordt. Het resulterende fluorescente signaal dat wordt gedetecteerd in de PCR-thermocycler van het NeuMoDx System is recht evenredig aan de vrijgekomen fluorofoor en kan worden gecorreleerd met de hoeveelheid doelmateriaal dat aanwezig is.

Een TaqMan-probe gemerkt met een fluorofoor aan het 5'-uiteinde en een donkere quencher aan het 3'-uiteinde wordt gebruikt voor detectie van HPV 16 (470/510 nm), HPV 18 (625/660 nm) en de resterende klinisch significante hoog-risico (High Risk; HR) typen ('HPV Other' [HPV overige]; 530/555 nm). Voor de detectie van β -globine is de TaqMan-probe gemerkt met een andere fluorescerende kleurstof (585/610 nm) aan het 5'-uiteinde en een donkere quencher aan het 3'-uiteinde. De software van het NeuMoDx System meet het fluorescentiesignaal dat aan het einde van elke amplificatiecyclus wordt uitgezonden door de TaqMan-probes. Wanneer de amplificatie is voltooid, analyseert de software van het NeuMoDx System de gegevens en geeft het systeem de uitslag POSITIVE (Positief), NEGATIVE (Negatief), INDETERMINATE (Onbepaald), UNRESOLVED (Onbekend) of NO RESULT (Geen resultaat).

REAGENTIA/VERBRUIKSARTIKELN

Meegeleverde materialen

REF	Inhoud	Eenheden per verpakking	Tests per eenheid	Tests per verpakking
617007	NeuMoDx HPV Test Strip <i>Gedroogde PCR-reagentia met HPV- en βG-specifieke TaqMan®-probe en -primers</i>	6	16	96

Materialen die benodigd zijn, maar niet worden meegeleverd (afzonderlijk verkrijgbaar via NeuMoDx)

REF	Inhoud
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Gedroogde paramagnetische deeltjes, lytisch enzym en β-globinecontrole</i>
400500	NeuMoDx Lysis Buffer 2
401600	NeuMoDx Viral Lysis Buffer*
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton® CO-RE/CO-RE II Tips (300 μl) met filters
235905	Hamilton CO-RE/CO-RE II Tips (1000 μl) met filters

*Vereist voor het verwerken van voorbehandelde SurePath-monsters

Benodigde instrumenten

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] of NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200]

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

- De NeuMoDx HPV Test Strip is uitsluitend geschikt voor *in-vitro*diagnostisch gebruik met NeuMoDx Systems.
- Gebruik de reagentia en de verbruiksartikelen niet na de vermelde uiterste gebruiksdatum.
- Gebruik de reagentia niet als de verzegeling is verbroken of als de verpakking bij aankomst is beschadigd.
- Gebruik de verbruiksartikelen of reagentia niet als de beschermhoes bij levering is geopend of beschadigd.
- Het minimale specimenvolume van secundaire aliquots is afhankelijk van de grootte van het buisje of de specimenbuisjesdrager volgens de onderstaande specificaties. Een volume onder het opgegeven minimum kan leiden tot de fout 'Quantity Not Sufficient' (Te weinig volume).
- Het gebruik van specimens die bij ongeschikte temperaturen of langer dan de gespecificeerde opslagtijd zijn bewaard, kan leiden tot ongeldige of foutieve resultaten.
- Er mogen uitsluitend SurePath-specimens die zijn voorbehandeld met Viral Lysis Buffer worden gebruikt op de NeuMoDx Molecular Systems. Onverdunde specimens kunnen leiden tot ongeldige of suboptimale resultaten.
- Tot 20% verdamping van het specimen werd waargenomen in validatieonderzoeken die werden uitgevoerd om de stabiliteit van specimens in het systeem wegens de hoge volatiliteit van het PreservCyt-afnamemedium te evalueren. Er wordt niet verwacht dat dit de monsterresultaten negatief beïnvloedt, maar er moet wel rekening mee worden gehouden wanneer monsters worden bereid voor uitgestelde verwerking. Er is geen significante verdamping waargenomen bij voorbehandelde SurePath-specimens.
- Voorkom besmetting van reagentia en verbruiksartikelen met microben en deoxyribonuclease (DNase) te allen tijde. Bij het gebruik van secundaire buisjes wordt aanbevolen steriele DNase-vrije wegwerppipetten te gebruiken. Gebruik voor elk specimen een nieuwe pipet.
- Hanteer of demonteer na het amplificatieproces geen NeuMoDx Cartridges om besmetting te voorkomen. Haal onder geen enkele omstandigheid NeuMoDx Cartridges uit de container voor biologisch gevaarlijk afval (NeuMoDx 288 Molecular System) of de afvalbak voor biologisch gevaarlijk afval (NeuMoDx 96 Molecular System). De NeuMoDx Cartridge is ontworpen om besmetting te voorkomen.
- Let goed op dat de NeuMoDx HPV Test Strip, de aanvullende benodigde verbruiksartikelen en reagentia voor de test, de persoonlijke beschermingsuitrusting zoals handschoenen en een laboratoriumjas, en het NeuMoDx System niet worden verontreinigd wanneer er in het laboratorium ook PCR-tests met open buisjes worden uitgevoerd.
- Draag schone, poedervrije handschoenen van nitril bij het hanteren van NeuMoDx-reagentia en -verbruiksartikelen. Let goed op dat u de bovenkant van de NeuMoDx Cartridge, de folielaag van de NeuMoDx HPV Test Strip en de NeuMoDx Extraction Plate of de bovenkant van de NeuMoDx Lysis Buffer 2 niet aanraakt; pak de verbruiksartikelen en reagentia alleen bij de zijkanten vast.
- Voor elk reagens zijn veiligheidsinformatiebladen (VIB's) beschikbaar (waar van toepassing) via www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Was uw handen grondig na het uitvoeren van de test.
- Pipetteer niet met de mond. Rook, drink of eet niet in ruimten waarin specimens of reagentia worden verwerkt.
- Behandel specimens altijd alsof ze infectieus zijn en volg procedures voor veilig werken in het laboratorium, zoals beschreven in *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁷ en in CLSI-document M29-A4.¹⁸
- Voer ongebruikte reagentia en afval af in overeenstemming met nationale, federale, provinciale en lokale regelgeving.
- Niet hergebruiken.

OPSLAG, HANTERING EN STABILITEIT VAN HET PRODUCT

- De NeuMoDx HPV Test Strips blijven in de primaire verpakking tot en met de vermelde uiterste gebruiksdatum op het productetiket stabiel bij 15 tot 23 °C.
- Laad testproducten die eerder op een *ander* NeuMoDx System zijn geladen niet nogmaals.
- Wanneer de NeuMoDx HPV Test Strip geladen is, kan de strip maximaal 14 dagen op het NeuMoDx System blijven. De resterende houdbaarheid van geladen teststrips wordt door de software bijgehouden en direct aan de gebruiker gemeld. Het systeem vraagt de gebruiker om teststrips die na de toegestane periode worden gebruikt te verwijderen.

AFNAME, HANTERING, OPSLAG EN TRANSPORT VAN SPECIMENS

1. De NeuMoDx HPV Assay is bestemd voor gebruik met monsters verkregen uit cervicale specimens. De gevalideerde afnamemedia voor cervicale specimens is PreservCyt en SurePath. Volg de instructies van de fabrikant van de specimenafnamehulpmiddelen voor bereiding en opslag.
2. SurePath-specimens moeten voor gebruik worden voorbehandeld in overeenstemming met de onderstaande instructies.
3. **Gekoelde monsters moeten vóór verwerking gedurende minstens 30 minuten op kamertemperatuur worden gebracht om optimale systeemprestaties te garanderen.**
4. Bereide cervicale specimens kunnen maximaal 24 uur in het NeuMoDx System worden bewaard voorafgaand aan de verwerking. Als bijkomende opslagtijd vereist is, wordt aanbevolen dat de specimens als volgt worden opgeslagen:

Cervicale specimens in PreservCyt:

- Tot 6 weken na monsterafname bij opslag op 15-25 °C
- Tot 3 maanden na monsterafname bij opslag op 2-8 °C
- Tot 8 jaar bij opslag op -80 °C. Laat specimens die bevroren zijn volledig ontdooien bij kamertemperatuur (15-30 °C); vortex het specimen om de inhoud gelijkmatig te verdelen.

Cervicale specimens in SurePath:

- Tot 30 dagen na monsterafname bij opslag op 2-30 °C
 - Tot 180 dagen na monsterafname bij opslag op 2-8 °C
 - Tot 180 dagen bij opslag op -20 °C. Laat specimens die bevroren zijn volledig ontdooien bij kamertemperatuur (15-30 °C); vortex het specimen om de inhoud gelijkmatig te verdelen.
- Als specimens worden verzonden, moeten ze worden verpakt en gelabeld conform de toepasselijke landelijke en/of internationale regelgeving.
 - Label de specimens duidelijk en geef aan dat ze moeten worden getest op HPV.

GEBRUIKSHANDLEIDING

Testvoorbereiding: PRESERVCYT

- Breng het barcodelabel voor het specimen aan op een specimenbuisje dat compatibel is met het NeuMoDx System.
- Plaats het busje met barcode in een specimenbuisjesdrager. Zorg er daarbij voor dat de dop is verwijderd alvorens het busje op het NeuMoDx System te laden.
- Maak een aliquot van het specimen volgens de hieronder gedefinieerde volumes voor **PreservCyt**-monsters:
 - Specimenbuisjesdrager (32 busjes): 11-14 mm diameter en 60-120 mm hoogte; minimaal vulvolume = 400 µl
 - Specimenbuisjesdrager (24 busjes): 14,5-18 mm diameter en 60-120 mm hoogte; minimaal vulvolume = 850 µl
 - Specimenbuisjesdrager met laag volume (32 busjes): 1,5 ml microcentrifugebuisje met conische bodem; minimaal vulvolume = 250 µl

Testvoorbereiding: SUREPATH

- Behandel SurePath-specimens voor met NeuMoDx Viral Lysis Buffer met een volumeverhouding van 1:1 en meng grondig. Gebruik een volume dat voldoet aan de onderstaande minimale specimenvolume.
- Incubeer bij 90 °C gedurende 20 minuten en laat vervolgens vooraf de volgende stap op kamertemperatuur komen.
- Breng het barcodelabel voor het specimen aan op een specimenbuisje dat compatibel is met het NeuMoDx System.
- Plaats het busje met barcode in een specimenbuisjesdrager. Zorg er daarbij voor dat de dop is verwijderd alvorens het busje op het NeuMoDx System te laden.
- Maak een aliquot van het specimen volgens de hieronder gedefinieerde volumes voor **SurePath**-monsters:
 - Specimenbuisjesdrager (32 busjes): 11-14 mm diameter en 60-120 mm hoogte; minimaal vulvolume = 450 µl
 - Specimenbuisjesdrager (24 busjes): 14,5-18 mm diameter en 60-120 mm hoogte; minimaal vulvolume = 800 µl
 - Specimenbuisjesdrager met laag volume (32 busjes): 1,5 ml microcentrifugebuisje met conische bodem; minimaal vulvolume = 300 µl

Bediening van het NeuMoDx System

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx 288 en NeuMoDx 96 Molecular Systems (O/N 40600108 en 40600317) voor gedetailleerde instructies

- Laad de testopdracht op het NeuMoDx System aan de hand van het gewenste type specimen.
 - PreservCyt-monsters worden getest door het specimen te definiëren als 'Cytology' (Cytologie).
 - Voorbehandelde SurePath-monsters worden getest door het specimen te definiëren als 'UserSpecified1'.

Indien niet gedefinieerd in de testopdracht, wordt standaard het PreservCyt-specimenstype gebruikt.

- Plaats NeuMoDx HPV Test Strip(s) in een of meer NeuMoDx System Test Strip Carrier en plaats deze met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx System.
- Plaats de benodigde verbruiksartikelen in de betreffende dragers van het NeuMoDx System als de software van het NeuMoDx System dat aangeeft. Laad de dragers voor verbruiksartikelen vervolgens met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx System.
- Vervang het NeuMoDx Wash Reagent en het NeuMoDx Release Reagent en leeg het primerafval en de container voor biologisch gevaarlijk afval (alleen NeuMoDx 288 Molecular System), de bak voor tipafval (alleen NeuMoDx 96 Molecular System) of de afvalbak voor biologisch gevaarlijk afval (alleen NeuMoDx 96 Molecular System) als u de instructie hiervoor krijgt op het scherm van de NeuMoDx System-software.
- Laad het/de specimenbuisje(s) in een specimenbuisjesdrager en controleer of alle dopjes van de busjes zijn verwijderd.
- Plaats de specimenbuisjesdrager(s) in het autoladerrek en plaats de drager(s) met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx System. Omdat er een geldige testopdracht in het systeem aanwezig is, wordt hierdoor de verwerking van de geladen specimens voor de aangegeven tests gestart.

BEPERKINGEN

1. De NeuMoDx HPV Test Strip kan alleen worden gebruikt met NeuMoDx Systems.
2. De prestatie van de NeuMoDx HPV Test Strip werd vastgesteld voor gebruik met monsters verkregen uit cervicale specimina (uitsrijkjes) in PreservCyt, SurePath of equivalent cytologische media. Het gebruik van de NeuMoDx HPV Test Strip met andere klinische bronnen is niet beoordeeld en de prestatiekenmerken voor andere soorten specimina en afname-media zijn onbekend.
3. Er mogen uitsluitend SurePath-specimina die zijn voorbehandeld met Viral Lysis Buffer worden gebruikt op de NeuMoDx Molecular Systems. Onverdunde specimina kunnen leiden tot ongediagnosticeerde of suboptimale resultaten.
4. Aangezien detectie van HPV afhankelijk is van de hoeveelheid weefsel die in het monster aanwezig is, zijn betrouwbare resultaten afhankelijk van de manier waarop specimina worden afgenomen, gehanteerd en opgeslagen.
5. Foutieve resultaten kunnen worden veroorzaakt door onjuiste afname, hantering of opslag van specimina, technische fouten of het door elkaar halen van specimenbuisjes. Bovendien kunnen zich vals-negatieve resultaten voordoen wanneer het aantal virusdeeltjes in het monster lager is dan de detectielimiet van de NeuMoDx HPV Assay.
6. Het bedienen van het NeuMoDx System mag alleen worden uitgevoerd door medewerkers die zijn getraind in het gebruik van het NeuMoDx System.
7. Als zowel de HPV-doelwit als het β -globine-doelwit niet worden geamplificeerd, wordt er een ongeldig resultaat (Indeterminate [Onbepaald] No Result [Geen resultaat] of Unresolved [Onbekend]) gerapporteerd en moet de test worden herhaald.
8. Een positief resultaat is niet altijd een indicatie voor de aanwezigheid van levende HPV. Een positief resultaat doet echter wel het vermoeden rijzen dat er HPV-DNA aanwezig is.
9. Verwijderingen of mutaties in de geconserveerde gebieden waarop de NeuMoDx HPV Assay is gericht, kunnen de detectie beïnvloeden en kunnen leiden tot een foutief resultaat.
10. De resultaten van de NeuMoDx HPV Assay moeten door de arts worden beschouwd als aanvulling op klinische observaties en overige beschikbare informatie.
11. Gebruik de goede laboratoriumpraktijken, zoals het aantrekken van nieuwe handschoenen bij het hanteren van specimina van verschillende patiënten, om besmetting te voorkomen.

RESULTATEN VERWERKEN

Beschikbare resultaten kunnen worden bekeken of afgedrukt vanuit het tabblad 'Results' (Resultaten) in het venster Results (Resultaten) op het aanraakscherm van het NeuMoDx System. De resultaten van de NeuMoDx HPV Assay worden automatisch gegenereerd door de software van het NeuMoDx System, dat gebruikmaakt van het beslissingsalgoritme en de resultaatverwerkingsparameters die in het NeuMoDx HPV-assaydefinitiebestand (HPV ADF) worden vermeld. Een resultaat van de NeuMoDx HPV Assay kan worden gerapporteerd als Negative (Negatief), Positive (Positief), Indeterminate (IND; Onbepaald), No Result (NR; Geen resultaat) of Unresolved (UNR; Onbekend), afhankelijk van de amplificatiestatus van de doelwitten en de monsterverwerkingscontrole. Resultaten worden gerapporteerd op basis van het ADF-beslissingsalgoritme, volgens het overzicht in de onderstaande *tabel 1*.

Ct-drempels voor ieder doelwit zijn vastgesteld en hieronder in *tabel 2* weergegeven om overeen te komen met klinische relevantie van de assay. Er kunnen zich situaties voordoen waarbij de amplificatiecurve van een doelwit wordt waargenomen maar er toch een Negative (negatief) resultaat wordt gerapporteerd. Deze uitkomst komt overeen met de resultaatverwerking en drempelcriteria, gevalideerd door NeuMoDx.

De door de NeuMoDx HPV Test gerapporteerde resultaten moeten door een arts worden geëvalueerd in de context van andere bevindingen.

Tabel 1. Overzicht van HPV Assay-beslissingsalgoritme

RESULTAAT	HPV16	HPV18	HPV overige	PROCESCONTROLE (β G)
POSITIVE (POSITIEF)	AMPLIFIED (GEAMPLIFICEERD)	N/A [^] (N.v.t.)	N/A [^] (N.v.t.)	N/A [^] (N.v.t.)
POSITIVE (POSITIEF)	N/A [^] (N.v.t.)	AMPLIFIED (GEAMPLIFICEERD)	N/A [^] (N.v.t.)	N/A [^] (N.v.t.)
POSITIVE (POSITIEF)	N/A [^] (N.v.t.)	N/A [^] (N.v.t.)	AMPLIFIED (GEAMPLIFICEERD)	N/A [^] (N.v.t.)
NEGATIVE (NEGATIEF)	NOT AMPLIFIED (NIET GEAMPLIFICEERD)	NOT AMPLIFIED (NIET GEAMPLIFICEERD)	NOT AMPLIFIED (NIET GEAMPLIFICEERD)	AMPLIFIED (GEAMPLIFICEERD)
IND (ONBEPAALD)	NOT AMPLIFIED, System Error Detected, Sample Processing Completed (Niet geamplificeerd, Systemfout gedetecteerd, Monsterverwerking voltooid)			
IND/NR* (ONBEPAALD/GEEN RESULTAAT)	NOT AMPLIFIED, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Niet geamplificeerd, Systemfout gedetecteerd, Monsterverwerking afgebroken)			
UNR (ONBEKEND)	NOT AMPLIFIED, No System Errors Noted (NIET GEAMPLIFICEERD, Geen systeemfouten gedetecteerd)			

*Melding No Result (Geen resultaat) wordt alleen weergegeven in NeuMoDx System-softwareversie 1.8 en hoger.

[^] N/A = Not Applicable (Niet van toepassing)

Tabel 2. Ct-drempelwaarden voor positieve uitslagen

RESULTAAT	HPV16	HPV18	HPV overige	PROCESCONTROLE (βG)
POSITIVE (POSITIEF)	33	33	30	N.v.t.*

* n.v.t. = niet van toepassing

Kwaliteitscontrole

Lokale regelgeving stelt meestal dat het laboratorium verantwoordelijk is voor controleprocedures om de nauwkeurigheid en precisie van het gehele analyseproces te bewaken. Ook moet zij het aantal, type en de frequentie van testcontrolemiddelen vaststellen met behulp van geverifieerde werkingsspecificaties voor een niet-gemodificeerd, goedgekeurd testsysteem.

Gebruikergedefinieerde (externe) controles

1. Geschikte gebruikergedefinieerde controles moeten worden gekozen en gevalideerd door het laboratorium in overeenstemming met lokale richtlijnen. Let op: gebruikergedefinieerde controles voor de test moeten geschikt zijn voor hetzelfde minimumvolume als dat van klinische monsters op basis van de grootte van de specimenbuisjesdrager zoals hierboven vermeld.
2. Voor het verwerken van gebruikergedefinieerde controles plaatst u de gelabelde controles in een specimenbuisjesdrager en plaatst u de drager vanuit het autoladerrek in het NeuMoDx System met behulp van het aanraakscherm. Het NeuMoDx System herkent de barcodes na definiëring en begint met het verwerken van controles.
3. Het wordt aanbevolen dat gebruikers elke 24 uur één set positieve en negatieve gebruikergedefinieerde controles verwerken.
4. Een positief testresultaat dat wordt gerapporteerd voor een negatief gebruikergedefinieerd controlemonster, duidt op besmetting van het specimen. Raadpleeg de *Gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx 288/96 Molecular System* voor advies over probleemoplossing.
5. Een negatief resultaat dat wordt gerapporteerd voor een positief gebruikergedefinieerd controlemonster, kan op een probleem met reagentia of het NeuMoDx System wijzen. Raadpleeg de *Gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx 288/96 Molecular System* voor advies over probleemoplossing.

(Interne) monsterverwerkingscontrole

β-globine (βG) dient als endogene interne controle, aangezien het aanwezig is in juist afgenomen cervicale uitstrijkjes. Het βG-doelwit ondergaat het volledige proces van extractie van nucleïnezuur en realtime PCR-amplificatie met elk monster, en fungeert dus als monsterkwaliteitscontrole. βG-specifieke primers en probes zijn samen met de primers en probes voor de verschillende HPV-doelwitten ook opgenomen in elke NeuMoDx HPV Test Strip, waardoor de detectie van βG en het doelwit-HPV-DNA (indien aanwezig) mogelijk is via multiplexe PCR. Detectie van βG-amplificatie zorgt ervoor dat de software van het NeuMoDx System de doeltreffendheid van de specimenafname, DNA-extractie en PCR-amplificatieprocessen kan monitoren.

Controles van NeuMoDx System(s)

De NeuMoDx Systems voeren verschillende interne instrumentcontroles als volgt uit:

1. Voorafgaand aan PCR voert het NeuMoDx System automatisch een 'FILL CHECK' (Vulcontrole) uit om er zeker van te zijn dat de PCR kamer gevuld is met oplossing en een voldoende hoeveelheid fluorescente probe bevat.
2. De software van het NeuMoDx System bewaakt continu de ingebouwde sensoren en actuatoren om een veilige en effectieve werking van het systeem te garanderen.
3. Door actieve bewaking van aspiratie- en doseerbewerkingen worden verschillende fluidische foutherstelmodi geïmplementeerd om ervoor te zorgen dat het systeem de verwerking van alle monsters op een veilige en effectieve manier kan voltooien of een passende foutcode weergeeft.
4. Het NeuMoDx System is uitgerust met een functie voor automatische Rerun (Opnieuw uitvoeren)/Repeat (Herhalen) die de eindgebruiker kan gebruiken om ervoor te zorgen dat een INVALID (Ongeldig) resultaat automatisch opnieuw wordt verwerkt om vertragingen in de resultaatrapportage zoveel mogelijk te beperken.

Ongeldige resultaten

Als een NeuMoDx HPV Assay die met het NeuMoDx System is uitgevoerd geen geldig resultaat oplevert, wordt dit gerapporteerd als Indeterminate (IND; Onbepaald), Unresolved (UNR; Onbekend) of No Result (NR; Geen resultaat), afhankelijk van de fout die is opgetreden.

Een IND-resultaat wordt gerapporteerd als er een fout wordt gedetecteerd in het NeuMoDx System tijdens de verwerking van het monster. Wanneer een IND-resultaat wordt gerapporteerd, wordt aanbevolen om de test opnieuw uit te voeren.

Een resultaat wordt gerapporteerd als UNR als er geen geldige amplificatie van HPV-DNA of de βG is gedetecteerd. Dit wijst mogelijk op een reagensdefect of de aanwezigheid van remmers. Wanneer een UNR-resultaat wordt gerapporteerd, wordt in eerste instantie aanbevolen om de test opnieuw uit te voeren. Als deze test ook een ongeldig resultaat oplevert, kan specimenverdunding worden gebruikt om de effecten van mogelijke monstervermindering te verminderen.

Een NR-resultaat wordt gerapporteerd indien de monsterverwerking wordt afgebroken door een systeemfout. Wanneer een NR-resultaat wordt gerapporteerd, wordt aanbevolen om de test opnieuw uit te voeren. Deze melding wordt alleen weergegeven in NeuMoDx-softwareversie 1.8 en hoger. In lagere versies van de software wordt deze fout weergegeven als IND.

PRESTATIEKENMERKEN

Analytische gevoeligheid

De detectielimiet (Limit of Detection; LoD) werd bepaald met behulp van een seriële drievoudige verdunningsreeks van gBlocks (dubbelstrengs DNA-genoomblokken) die het amplificatiegebied van elk van de gerichte HPV-typen (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67, 68) en β -globine bevat. Elke zesledige verdunningsreeks werd bereid tegen een achtergrond van 2000 ng/ml humaan DNA (behalve voor β -globine) en de concentratie getest in 45-voud. De resultaten van het onderzoek waarbij de LoD werd bepaald met 95% trefpercentage-analyse worden weergegeven in de onderstaande tabel 3.

Tabel 3. Detectielimiet (Limit of Detection; LoD) van de NeuMoDx HPV Assay van 15 hrHPV-typen en het β -globine-gen

Doelwit	Detectielimiet (kopieën/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 -globine	74.074

Analytische specificiteit

De analytische specificiteit van de NeuMoDx HPV Assay werd bepaald tegen DNA van niet-gerichte HPV-genomen (tabel 4) bij 1×10^6 kopieën/ml en tegen de potentieel pathogene vaginale micro-organismen getoond in tabel 5 bij 1×10^5 CFU/ml of 1×10^5 PFU/ml. De assay vertoonde geen kruisreactiviteit met de niet-gerichte HPV-typen 6, 11, 26, 30, 34, 53, 69, 73, 82, 85, of de micro-organismen. Positieve resultaten van 'HPV Other' (HPV overige) werden waargenomen met HPV 70 (wellicht vanwege de hoge homologie van sequenties tussen typen 39, 68 en 70) en een daaropvolgend titratieonderzoek wees erop dat dit type kon worden gedetecteerd bij $\geq 4,12 \times 10^6$ kopieën/ml. HPV 70 wordt als vermoedelijk kankerwekkend beschouwd op basis van epidemiologische, fylogenetische en functionele onderzoeken.

Tabel 4. Niet-gerichte HPV-typen geëvalueerd op kruisreactiviteit

HPV niet-gerichte genotypen	
HPV 6	HPV 69
HPV 11	HPV 70
HPV 26	HPV 73
HPV 30	HPV 82
HPV 34	HPV 85
HPV 53	

Tabel 5. Micro-organismen geëvalueerd op kruisreactiviteit

Micro-organisme		
Adenovirus*	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	Epstein-Barr-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>	Herpes simplex virus 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	Herpes simplex virus 2	<i>Staphylococcus faecalis</i>
<i>Corynebacterium spp.</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Staphylococcus pyogenes</i>
Cytomegalovirus	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
<i>Treponema pallidum**</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	

* getest op 1×10^5 (TCID₅₀)/ml

** uitgevoerd door *in silico*-analyse

Analytische reproduceerbaarheid

De analytische reproduceerbaarheid van de NeuMoDx HPV Assay werd beoordeeld met dezelfde gegevensset als die werden gebruikt voor het onderzoek van de detectielimiet. De monsters werden getest bij 3X LoD op 3 verschillende NeuMoDx Molecular Systems, 1 N288- en 2 N96-systemen met behulp van 3 verschillende partijen NeuMoDx HPV Test Strips. Uit de gegevens bleek een uitstekende algemene reproduceerbaarheid, met een maximale CV van 3,0% voor elk van de geteste genotypen zoals weergegeven in *tabel 6*. Deze gegevensset werd ook gebruikt om de reproduceerbaarheid tussen partijen reagentia en systemen aan te tonen, zoals weergegeven in *tabel 7*.

Tabel 6. Geteste hrHPV-genotypen

Doelwit	Doelwitconcentratie	kopieën/ml	Trefpercentage	Totale CV
β-globine	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%

Tabel 7. Reproduceerbaarheid tussen partijen en tussen systemen

Doelwit	CV variabiliteit tussen partijen			CV systeemvariatie		
	Partij 1	Partij 2	Partij 3	Systeem 1 (N96)	Systeem 2 (N288)	Systeem 3 (N96)
β-globine	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%

Interfererende stoffen

Kunstmatige monsters van PreservCyt werden verrijkt met een recombinant baculovirus dat amplificatiegebieden van HPV 16, 18, 51 en β -globine bevatte bij 1000 kopieën/ml en de stoffen die staan vermeld in *tabel 8*. Geen van de middelen had een significant remmend effect op de prestaties van de assay.

Tabel 8. Geteste potentieel interfererende stoffen

	Stof	Concentratie
Endogeen	Volbloed (humaan)	1% (v/v)
	Leukocyten	10 ⁶ cellen/ml
	Mucine	1% (v/v)
Exogeen	Douche	1% (v/v)
	Antischimmelcrème	1% (w/v)
	Spermicide	1% (w/v)
	Vaginaal glijmiddel	1% (w/v)
	Vrouwelijke spray	1% (v/v)
	Zaaddodend schuim	1% (w/v)

Stabiliteit van het monster in het instrument

Recombinant baculoviruscontrole die het doelmateriaal voor HPV 16, 18, 51 en β -globine bevat, werd verrijkt op $\sim 3x$ LOD cp/ml in het afnamemedium SurePath of PreservCyt en verwerkt met de NeuMoDx HPV Assay. Aan het einde van de verwerking werden alle positieve en negatieve specimenbuisjes gedurende 4, 8 en 24 uur achtergelaten op de systeemwerktafel en vervolgens opnieuw getest. Het verwachte resultaat op alle tijdstippen was POSITIEF (POSITIEF) voor alle cytologische specimens die met doelmateriaal waren verrijkt en NEGATIEF (NEGATIEF) (voor alle doelen) voor cytologische specimens die niet met doelmateriaal waren verrijkt. De resultaten waren op het tijdstip van 24 uur volledig in overeenstemming met de verwachte resultaten, wat een stabiliteit van 24 uur aantoont voor het testen met de NeuMoDx HPV Assay. De resultaten zijn hieronder samengevat in *tabel 9*. Bij de PreservCyt-monsters verdampte 20% tijdens opslag in het systeem gedurende 24 uur, maar deze verdamping had geen invloed op de detectie van doelen op het geteste niveau.

Tabel 9. Gegevensoverzicht stabiliteit van monsters in het instrument

Stabiliteit van specimens in het instrument	Doelwit	PreservCyt		SurePath	
		T ₀	24 uur	T ₀	24 uur
		% overeenstemming	% overeenstemming	% overeenstemming	% overeenstemming
Positieve set	HPV 16	100%	100%	100%	100%
	HPV 18	100%	100%	100%	100%
	HPV overige	100%	100%	100%	100%
	β -globine	100%	100%	100%	100%
Negatieve set	Negatieve (alleen β -globine)	100%	100%	100%	100%

Klinische prestaties-Afnamemedium PreservCyt

De klinische gevoeligheid en specificiteit van de NeuMoDx HPV Assay voor cervicale intra-epitheliale neoplasie graad 2 of hoger (CIN2+) in cervicale specimens afgenomen in PreservCyt werden geëvalueerd met een non-inferioriteitsanalyse met betrekking tot de referentie-assay (d.w.z. hoog-risico HPV GP5+/6+-PCR-EIA) volgens de internationale richtlijnen voor HPV-testvereisten voor screening van baarmoederhalskanker.¹⁶ In de vorm van een patiënt-controleonderzoek werden 67 monsters getest van vrouwen van minstens 30 jaar oud met histologisch bevestigde CIN2+ (d.w.z. casussen; *tabel 10*). Voor de klinische specificiteit werden 823 opeenvolgend afgenomen, op vloeistof gebaseerde cytologische monsters van de gescreende populatie van vrouwen met normale cytologie en zonder bewijs van CIN2+ binnen 2 jaar van de follow-up getest (d.w.z. controles). Het totale succespercentage met de NeuMoDx HPV Assay bedroeg 99,4% (818/823) zoals weergegeven in *tabel 11*. De klinische gevoeligheid van de NeuMoDx HPV Assay voor CIN2+ was 92,5% (62/67; 95% BI 83,3-96,9) en de klinische specificiteit voor CIN2+ was 95,6% (782/818; 95% BI 92,2-97,6); beide waren non-inferieur ten opzichte van de referentie-assay GP5+/6+-PCR-EIA (respectievelijk $P=0,02$ en $P<0,0001$).

Tabel 10. Resultaten klinische gevoeligheid van monsters van vrouwen van 30+ jaar met bevestigde CIN2+

Referentietest	NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	TOTAAL
POS	61	2	63
NEG	1	3	4
TOTAAL	62	5	67

Klinische gevoeligheid NeuMoDx HPV Assay: 92,5% (95% BI 83,3-96,9)

Tabel 11. Resultaten klinische specificiteit van monsters van vrouwen met normale cytologie en niet-bevestigde CIN2+

Referentietest	NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	TOTAAL
POS	28	19	47
NEG	8	763	771
TOTAAL	36	782	818

Klinische specificiteit NeuMoDx HPV Assay: 95,6% (95% BI 92,2-97,6)

Voor vrouwen onder 30 werden 173 op vloeistof gebaseerde cytologische monsters getest van vrouwen die een polikliniek bezochten. Het succespercentage van de NeuMoDx HPV Assay bedroeg 98,3% (170/173) (tabel 12). De CIN3+ gevoeligheid van de NeuMoDx HPV Assay was 91,1% (41/45; 95% BI 78,6-96,6) en de CIN3+ specificiteit was 51,2% (64/125; 95% BI 42,5-60,0). De relatieve waarden voor gevoeligheid en specificiteit in vergelijking met de QIAScreen HPV PCR Test waren respectievelijk 1,03 en 1,10.

Tabel 12. Prestatie NeuMoDx HPV Assay bij vrouwen met leeftijd < 30 gestratificeerd per histologie en QIAScreen HPV PCR Test

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

Voor vrouwen met ASC-US of LSIL bedroeg de klinische gevoeligheid voor CIN2+ 91,7% (11/12; 95% BI 58,7-98,8) en de klinische specificiteit voor CIN2+ was 75,0% (15/20; 95% BI 52,2-89,2) (tabel 13).

Tabel 13. Prestatie NeuMoDx HPV Assay bij vrouwen met ASC-US/LSIL-cytologie gestratificeerd per histologie en referentietestresultaat

Histologie	Referentie-assay	NeuMoDx HPV Assay		
		NEG	POS	TOTAAL
<=CIN1	NEG	13	-	13
	POS	2	5	7
	TOTAAL	15	5	20
CIN2	NEG	-	-	-
	POS	-	6	6
	TOTAAL	-	6	6
CIN3+	NEG	1	-	1
	POS	-	5	5
	TOTAAL	1	5	6
ALGEMEEN	NEG	14	-	14
	POS	2	16	18
	TOTAAL	16	16	32

Klinische prestaties-Afnamemedium SurePath

De klinische gevoeligheid en specificiteit van de NeuMoDx HPV Assay voor detectie van CIN2+ werd vastgesteld met behulp van 948 cervicale uitstrijkjes afgenomen in het afnamemedium SurePath met een patiënt-controleonderzoek. Relatieve gevoeligheid en specificiteit voor CIN2+ van de NeuMoDx HPV Assay vergeleken met een klinisch gevalideerde referentie-assay (d.w.z. HPV-Risk assay) werd vastgesteld op basis van de statistische methode van een 'non-inferioriteit scoretest'.

Klinische gevoeligheid werd vastgesteld met behulp van 106 monsters van vrouwen bij wie CIN2+ histologisch is bevestigd (d.w.z. casussen). De gemiddelde leeftijd van de vrouwen was 38 (bereik van 30-58) jaar. De gevoeligheid van de NeuMoDx HPV Assay werd vastgesteld op 92,5% (98/106 95% BI: 85,6-96,2) en gelijk aan de referentie-assay HPV-Risk (tabel 14). De relatieve gevoeligheid van de NeuMoDx HPV Assay vergeleken met de HPV-Risk assay was 1,00 met een non-inferioriteit scoretestwaarde van $P = 0,0009$.

Klinische specificiteit werd vastgesteld op basis van 842 afgenomen op vloeistof gebaseerde cytologische monsters (SurePath) van de gescreende populatie vrouwen met normale cytologie en zonder bewijs dat duidt op CIN2+ binnen 2 jaar follow-up. De gemiddelde leeftijd van de vrouwen was 43 (bereik van 30-59) jaar en 98,6% (935/948) van de monsters leverden geldige resultaten op. De specificiteit van de NeuMoDx HPV Assay was 93,5% (775/829; 95% BI: 91,6-95,0) en die van de referentie-assay HPV-Risk was 91,9% (762/829; 95% BI: 89,9-93,6) (tabel 15). De relatieve specificiteit van de NeuMoDx HPV Assay vergeleken met de HPV-Risk assay was 1,02 met een non-inferioriteit scoretestwaarde van $P < 0,0001$.

Tabel 14. Resultaten klinische gevoeligheid van monsters afgenomen bij vrouwen met bevestigde CIN2+ in het afnamemedium SurePath

Referentietest	NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	TOTAAL
POS	97	1	98
NEG	1	7	8
TOTAAL	98	8	106

Klinische gevoeligheid NeuMoDx HPV Assay: 92,5% (95% BI 85,6-96,2)

Tabel 15. Resultaten klinische specificiteit van monsters van vrouwen met normale cytologie en niet-bevestigde CIN2+ in afnamemedium SurePath

Referentietest	NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	TOTAAL
POS	48	6	54
NEG	19	756	775
TOTAAL	67	775	842

Klinische specificiteit NeuMoDx HPV Assay: 93,5% (95% BI 91,6-95,0)

Klinische reproduceerbaarheid

De reproduceerbaarheid binnen het laboratorium en overeenkomst tussen laboratoria van de test op klinische specimens afgenomen in PreservCyt werden geëvalueerd volgens de internationale richtlijnen voor HPV-testvereisten voor screening van baarmoederhalskanker.¹⁶ De reproduceerbaarheid binnen het laboratorium op cervicale specimens over de lengte van het onderzoek bedroeg 96,0% (484/504; 95% BI 94,3-97,4) met een kappa-waarde (κ) van 0,90 (tabel 16). De resultaten van deze testmomenten werden vervolgens beoordeeld op de overeenstemming met die van een andere testlocatie, wat respectievelijk overeenkomsten tussen laboratoria van 96,4% (486/504; 95% BI 94,8-97,7) opleverde met $\kappa=0,91$ en 94,4% (476/504; 95% BI 92,5-96,1) met $\kappa=0,86$ voor de eerste en tweede testmomenten (tabel 17).

Tabel 16. Reproduceerbaarheid in de loop van de tijd binnen het laboratorium van de NeuMoDx HPV Assay

NeuMoDx HPV Assay testresultaat 1	NeuMoDx HPV Assay testresultaat 2		
	NEG	POS	TOTAAL
NEG	347	13	360
POS	7	137	144
TOTAAL	354	150	504
Reproduceerbaarheid = 96,0% (95% BI 94,3-97,4); $\kappa=0,90$			

Tabel 17. Overeenkomst tussen laboratoria van de NeuMoDx HPV Assay

NeuMoDx HPV Assay externe test	NeuMoDx HPV Assay – Intern testresultaat 1			NeuMoDx HPV Assay – Intern testresultaat 2		
	NEG	POS	TOTAAL	NEG	POS	TOTAAL
NEG	355	13	368	347	21	368
POS	5	131	136	7	129	136
TOTAAL	360	144	504	354	150	504
96,4% overeenkomst (95% BI 94,8-97,7); $\kappa=0,91$			94,4% overeenkomst (95% BI 92,5-96,1); $\kappa=0,86$			

LITERATUUR

1. Walboomers J, Jacobs M, Manos M, Bosch F, Kummer J, Shah K, Snijders P, Peto J, Meijer C, Munoz N. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J.Pathol.* 1999;189(1):12-9.
2. Munoz N, Bosch F, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah K, Snijders P, Meijer C. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N.Engl.J.Med.* 2003;348(6):518-27.
3. Bosch F, Lorincz A, Munoz N, Meijer C, Shah K. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J.Clin.Pathol.* 2002;55(4):244-65.
4. Snijders P, Steenbergen R, Heideman D, Meijer C. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. *J.Pathol.* 2006;208(2):152-64.
5. Vinokurova S, Wentzensen N, Kraus I, Klaes R, Driesch C, Melsheimer P, Kisseljov F, Durst M, Schneider A, von Knebel DM. Type-dependent integration frequency of human papillomavirus genomes in cervical lesions. *Cancer Res.* 2008;68(1):307-13.
6. Kraus I, Driesch C, Vinokurova S, Hovig E, Schneider A, von Knebel D, Durst M. The majority of viral-cellular fusion transcripts in cervical carcinomas cotranscribe cellular sequences of known or predicted genes. *Cancer Res.* 2008;68(7):2514-22.
7. Horner S, DeFilippis R, Manuelidis L, DiMaio D. Repression of the human papillomavirus E6 gene initiates p53-dependent, telomerase-independent senescence and apoptosis in HeLa cervical carcinoma cells. *J.Virol.* 2004;78(8):4063-73.
8. Butz K, Ristriani T, Hengstermann A, Denk C, Scheffner M, Hoppe-Seyler F. siRNA targeting of the viral E6 oncogene efficiently kills human papillomavirus-positive cancer cells. *Oncogene* 2003;22(38):5938-45.
9. Baseman, J. G. & Koutsky, L. A. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J. Clin. Virol.* 32 (Suppl. 1), S16–S24 (2005).
10. Nobbenhuis M, Helmerhorst T, van den Brule A, Rozendaal L, Voorhorst F, Bezemer P, Verheijen R, Meijer C. Cytological regression and clearance of high-risk human papillomavirus in women with an abnormal cervical smear. *Lancet.* 2001;358(9295):1782-1783.
11. Rijkaart D, Berkhof J, Rozendaal L, van Kemenade F, Bulkman N, Heideman D, Kenter G, Cuzick J, Snijders P, Meijer C. 2012. Human papillomavirus testing for the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cancer: final results of the POBASCAM randomized controlled trial. *Lancet Oncol.* 13:78–88.
12. Sankaranarayanan R, Nene B, Shastri S, Jayant K, Muwonge R, Budukh A, Hingmire S, Malvi S, Thorat R, Kothari A, Chinoy R, Kelkar R, Kane S, Desai S, Keskar V, Rajeshwarkar R, Panse N, Dinshaw K. 2009. HPV screening for cervical cancer in rural India. *N. Engl. J. Med.* 360:1385–1394
13. Cubie H, Cuschieri K, Understanding HPV tests and their appropriate applications, *Cytopathology* 24 (5) (2013) 289–308.
14. Arbyn M, Ronco G, Anttila A, Meijer C, Poljak M, Ogilvie G, Koliopoulos G, Naucler P, Sankaranarayanan R, Peto J, Evidence regarding human papillomavirus testing in secondary prevention of cervical cancer, *Vaccine* 30 (Suppl. 5) (2012) F88–99.
15. Arbyn M, Roelens J, Simoens C, Buntinx F, Paraskevaidis E, Martin-Hirsch P, Prendiville W, Human papillomavirus testing versus repeat cytology for triage of minor cytological cervical lesions, *Cochrane Database Syst. Rev.* (3) (2013)
16. Meijer C, Berkhof J, Castle P, Hesselink A, Franco E, Ronco G, Arbyn M, Bosch F, Cuzick J, Dillner J, Heideman D, Snijders P. 2009. Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older. *Int.J.Cancer* 124:516–520.
17. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
18. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

HANDELSMERKEN

NeuMoDx™ en NeuDry™ zijn handelsmerken van NeuMoDx Molecular, Inc.















Hamilton® is een gedeponeerd handelsmerk van Hamilton Company.

PreservCyt® is een gedeponeerd handelsmerk van Hologic, Inc.

SurePath™ is een handelsmerk van Becton Dickinson (BD).

Alle andere productnamen, handelsmerken en gedeponeerde handelsmerken die in dit document kunnen voorkomen, zijn eigendom van hun respectieve eigenaars.

LIJST MET SYMBOLEN

 R only	Gebruik uitsluitend op voorschrift		Temperatuurbepering
	Fabrikant		Niet hergebruiken
	<i>In-vitro</i> diagnostisch medisch hulpmiddel		Inhoud voldoende voor <n> tests
	Geautoriseerde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap		Raadpleeg de gebruikshandleiding
	Catalogusnummer		Voorzichtig
	Batchcode		Biologische risico's
	Uiterste gebruiksdatum		CE-markering



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

Sponsor (AUS):
QIAGEN Pty Ltd
Level 2 Chadstone Place
1341 Dandenong Rd
Chadstone VIC 3148
Australië



Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
Nederland



Technische ondersteuning/alertheidsmeldingen: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents